

Riku Somermäki

Harakan laboratorion opetusmenetelmien kehitys ja testaus

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioala

Opinnäytetyö

14.11.2017

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Riku Somermäki Harakan laboratorion opetusmetodien kehitys ja testaus 37 sivua + 5 liitettä 14.11.2017
Tutkinto	Laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioalan koulutusohjelma
Ohjaajat	Kemisti Asta Ekman Lehtori Mia Ruismäki
<p>Opinnäytetyön tavoitteena oli päivittää Harakan ympäristökeskuksen ympäristötutkimuslaboratorion analyysimenetelmiä SFS-standardien mukaisiksi siten, että lukiotasoinen opiskelija kykenee toteuttamaan analyysit. Päivitettäviksi valittiin yhteensä neljä eri menetelmää: kaksi fotometristä menetelmää, sekä kaksi titrimetristä menetelmää. Fotometriset menetelmät olivat nitriitti- ja fosfaattianalyysit vesinäytteestä, titrimetriset menetelmät olivat veden kloridipitoisuus ja kovuus.</p> <p>Harakan fotometrisiä laitteita testattiin vertaamalla niitä Metropolia Ammattikorkeakoulun spektrofotometriseen laitteeseen suppean validoinnin mukaan. Yhteensä mittauksia tehtiin kummallakin menetelmällä noin 95 kappaletta kaikilla laitteilla. Kaikissa analyyseissä pienillä näytepitoisuuksilla mittausepävarmuus nousi korkeaksi, mutta tämä ei haittaa työn tavoitetta, sillä opiskelijoiden mittauksissa tärkein asia ei ole tulosten tarkkuus, vaan oikean ympäristöanalyysin tekeminen, töiden teorian sisäistäminen, sekä opitun reflektointi ryhmän kanssa.</p> <p>Titrimetristen menetelmien näytemäärät säädettiin Suomenlahden oloihin sopiviksi suorittamalla kumpikin määrittäminen kolme kertaa eri näytemäärillä. Lopullisiksi näytemääriksi kumpaankin analyysiin tuli noin 7,5 ml merivettä. Uusilla metodeilla ohjaajat tietävät oletetun titrantin kulutuksen ja näin saatiin virtaviivaistettua menetelmiä.</p> <p>Kaikki valitut menetelmät saatiin luotua Harakan olosuhteisiin sopiviksi siten, että Suomenlahden näytematriisin aiheuttamat ominaisuudet on otettu huomioon. Työ onnistui siis hyvin ja menetelmät voidaan ottaa heti käyttöön Harakan laboratoriossa.</p>	
Avainsanat	Ympäristökemia, ympäristönsuojelu, menetelmien vertaaminen, ympäristökasvatus

Author Title Number of Pages Date	Riku Somermäki Method Development and Testing in the Harakka Teaching Laboratory 37 pages + 5 appendices 14 November 2017
Degree	Bachelor of laboratory services
Degree Programme	Laboratory sciences
Instructors	Asta Ekman, Chemist Mia Ruismäki, Senior Lecturer
<p>The purpose of this study was to create new methods for analyzing water quality in the Harakka Environmental Center's Environmental laboratory. The methods that were used in Harakka's Laboratory were commercial, easy to use kits which left the theory behind them abstract. Because of their simplicity these didn't "feel" like a real environmental study for the students.</p> <p>Nitrite-, phosphate-, and chloride concentration and the hardness methods were chosen to be updated on basis of SFS standards because these methods are suitable for Harakka Laboratory's setting. Many laboratories around Finland use SFS standards as basis for their own methods.</p> <p>New nitrite and phosphate methods were tested by comparing Harakka's photometric equipment to Metropolia University of Applied Sciences spectrophotometer, Perkin Elmer Lambda 25. In both methods around 95 samples were analyzed. Chloride and hardness methods were tested on different sample amounts to find the proper sample size for seawater analysis.</p> <p>Nitrite and phosphate methods had high uncertainty on low concentrations but since the most important part of education is not the accuracy of the results, but the laboratory work and theory behind them, it was concluded that the high uncertainty was not a problem. Chloride and hardness methods were created successfully by changing the sample volume to right amount. Overall the study was a success, for new methods were created and students can now do real environmental laboratory work in Harakka Environmental Center, instead of just following commercial kits.</p>	
Keywords	Environmental chemistry, environmental protection, comparing methods, environmental education

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Teoreettinen tausta	2
2.1	Ympäristönsuojelu	2
2.1.1	Ympäristönsuojelulaki	2
2.1.2	Ympäristökasvatus	2
2.1.3	Ympäristöntutkimus ja -seuranta	3
2.2	Ympäristökemia	4
2.2.1	Ympäristötiede	4
2.2.2	Ympäristötieteen osa-alueet	5
2.3	Vesianalytiikka	7
2.3.1	Merivesi näytteenä	8
2.3.2	Näytteenotto	10
2.3.3	UV/Vis-spektrofotometria	11
2.3.4	Titrimetria	12
3	Menetelmät	14
3.1	Työssä käytetyt analyysilaitteet	14
3.2	Työssä käytetyt analyysimenetelmät	14
3.2.1	Nitriittimääritys	14
3.2.2	Fosfaattimääritys	15
3.2.3	Kloridimääritys	16
3.2.4	Kovuusmääritys	16
3.3	Työssä käytetyt kemikaalit	18
3.4	Työn näytteenotto	18
4	Analyysit ja pohdinta	19
4.1	Nitriitti	19
4.1.1	Kalibrointisuora	20
4.1.2	Määritysraja	22
4.1.3	Näytteet	23
4.1.4	Kontrollinäytteet	23
4.1.5	Takaisinsaantokokeet	24
4.1.6	Spesifisyys	25

4.1.7	Mittausepävarmuus	27
4.2	Fosfaatti	27
4.2.1	Kalibrointisuora	29
4.2.2	Määrittysraja	31
4.2.3	Näytteet	31
4.2.4	Spesifisyys	32
4.3	Kloridi	33
4.4	Kovuus	34
4.5	Kaikki mittaustulokset	35
5	Johtopäätökset	37
	Lähteet	38
	Liitteet	
	Liite 1. Laimennoskaaviot	
	Liite 2. Nitriitin määrittys merivedestä, Spektrometrinen metodi	
	Liite 3. Fosfaatin määrittys merivedestä, Spektrometrinen metodi	
	Liite 4. Kloridin määrittys merivedestä, Mohrin titraus	
	Liite 5. Kovuuden määrittys merivedestä, Titrimetrinen metodi	

Lyhenteet

EDTA	Etyleenidiamiinitetraetikkahappo
EEA	Euroopan ympäristökeskus (<i>European Environment Agency</i>)
EPI	Ympäristösuoritusindeksi (<i>Environmental Performance Index</i>)
ERIO T	Eriokromimusta T
EU	Euroopan Unioni
Lovi	Lovibond PC 22 fotometri
Nano	Nanocolor 500 D fotometri
PE	Perkin Elmer Lambda 25 spektrofotometri
SYKE	Suomen Ympäristökeskus
UV/Vis	Ultravioletti- /näkyvä valo

1 Johdanto

Opinnäytetyö tehdään Helsingin kaupungin ympäristöpalveluiden luonto- ja ympäristötietoisuusyksikölle, jonka eräänä tehtävänä on edistää nuorten ympäristökasvatusta ja sitä avustamassa on monia tahoja ympäri Helsinkiä. Harakan luontokeskus on yksi näistä toimipisteistä. Harakan luontokeskuksessa toimii museoviraston suojelema opetuslaboratorio. Laboratorio on aikaisemmin toiminut puolustusvoimien suojeluteknisenä laboratoriona, jossa tutkittiin muun muassa taistelukaasujen vaikutuksia eläimiin ja kehitettiin näille kaasuille suojautumiskeinoja. Laboratoriossa opetetaan nykyään pääosin ilman, maan ja veden kemialla yläaste-, lukio- ja ammattikorkeakouluopiskelijoille.

Laboratoriossa on opiskelijoille käytössä kaupallisia kittejä, joilla voidaan tutkia helposti veden ja maan ominaisuuksia. Kitit eivät kuitenkaan ole hyviä opetuksen kannalta, sillä niissä ei käsitellä töiden teoriaa, niiden suorittaminen on liian yksinkertaista ja tulokset ovat hyvin silmämääräisiä. Ideaali tilanne opetuksen kannalta olisi se, että kaikki menetelmät olisivat standardien pohjalta rakennettuja, jotta opiskelijat pääsisivät tekemään oikeita ympäristöntutkimiseen liittyviä analyysejä laboratoriossa. Opinnäytetyön tarkoituksena olikin päivittää mahdollisimman monta Harakan laboratorion käytössä olevaa metodologia standardien pohjalta toteutettavaksi.

Opinnäytetyö toteutetaan valitsemalla sopiva joukko menetelmiä päivitettäväksi, joihin kirjoitettiin ohjeet SFS-standardien pohjalta. Päivitetyt menetelmät testataan Metropolia Ammattikorkeakoulun ja Harakan laboratorioissa. Lisäksi Harakan laitteiden toimivuutta testataan vertaamalla niitä Metropolia Ammattikorkeakoulun validoituihin laitteisiin suppean validoinnin mukaan. Tehdyistä analyyseistä kirjoitetaan selkeät ohjeet, joiden mukaan lukiotason opiskelija voi tehdä kyseiset analyysit, sekä laskea tulokset. Päivitetyt menetelmät ovat nitriitti-, fosfaatti- ja kloridipitoisuus vedestä, sekä veden kovuus.

Menetelmistä saadaan luotua Harakkaan soveltuvat työohjeet, joita opiskelijoiden on johdonmukaista seurata (liitteet 2 - 5). Ohjaajille tehdään myös omat työohjeet, joissa on laitteiden käyttöohjeet, sekä liuosten valmistusohjeet.

2 Teoreettinen tausta

2.1 Ympäristönsuojelu

Ympäristönsuojelu itsessään on valintoja, joita yksilö tai yhteisö tekee tuotteiden hankinnoissa. Lainsäädäntö, sekä ympäristökasvatus ovat yhteiskunnan ja yhteisöjen tapoja asettaa rajoja ja opettaa ihmisille näitä valintoja. Ympäristönsuoranta tuottaa tarvittavaa tietoa siitä, ovatko nämä toimet onnistuneita isossa mittakaavassa.

2.1.1 Ympäristönsuojelulaki

Keskeisin ympäristönsuojeluun keskittyvä laki on alun perin vuonna 2000 säädetty ympäristönsuojelulaki, joka on uudistettu viimeksi vuonna 2014. Se pitää sisällään ympäristönsuojeluun liittyvät tavoitteet: ehkäistä ympäristön pilaantumista, turvata ympäristön terveellisyyttä, edistää luonnonvarojen kestäväää käyttöä, sekä parantaa kansalaisten vaikutusmahdollisuuksia. Ympäristönsuojelulain lisäksi on olemassa muitakin lainsäädäntöjä, joilla pyritään turvaamaan ympäristön säilyvyys: geeniteknikkalainsäädäntö, ilmastolainsäädäntö, ilmansuojelulainsäädäntö, jätelainsäädäntö, kemikaalilainsäädäntö, maaperänsuojelulainsäädäntö, meluntorjuntalainsäädäntö, ympäristövahinkolainsäädäntö, ympäristöasioiden hallinnan lainsäädäntö, sekä ympäristövaikutusten arviointia koskeva lainsäädäntö. [1.]

Ympäristönsuojelulakeja tavallisen kansalaisen on helpoin noudattaa käyttämällä maalaisjärkeä ja ajattelemalla mitä tekee ympäristön kannalta. Isojen yritysten ja teollisuuden on taas laadittava tarkat suunnitelmat kaikkien ympäristövaikutusten supistamiseksi. Vuonna 2014 ympäristönsuojelulakiin on lisätty yritysten ja teollisuuden osalta kohta, joka vaatii heitä käyttämään parasta tarjolla olevaa teknologiaa, niin että energiankäyttö on tehokasta, toiminnan päästöjä tarkkaillaan ja että käytetään riittävää asiantuntemusta tehdyissä töissä. [2.]

2.1.2 Ympäristökasvatus

Ympäristökasvatus on työtä, jolla yhteiskunnasta pyritään saamaan mahdollisimman ekologisesti, sekä kestäväan kehityksen mukaisesti toimiva. Työ itsessään voi pitää sisällään luentoja, kenttäkursseja, leikkejä, askartelua, asiakaspalvelua, tutkimusta tai

luontokierroksia. Ympäristökasvattajan työ on siis työtä kaikenikäisten ihmisten ympäristöntuntemuksen hyväksi; ympäristökasvatuksessa yritetään parantaa ihmisten ympäristötietoisuutta, sekä ympäristövastuullista käyttäytymistä opettamalla heille vaihtoehtoisia tapoja ajatella ja toimia arjessa. Eri ikäryhmille käytetään erilaisia opetusmetodeja. Lasten kanssa pyritään oppimaan leikin ja tekemisen kautta, kun taas nuorille ja aikuisille luontoon menemällä ja itse tekemällä. [3.] [4.]

Tutkiva ja ilmiöpohjainen oppiminen ovat vuoden 2016 peruskoulun opetussuunnitelmaan lisättyjä opetusmenetelmiä, joita voidaan soveltaa erittäin hyvin ympäristökasvatuksen teemoihin. Sen keskeinen idea on, että oppilaan ei pidä orientoitua eri oppiaineisiin, vaan mahdollisimman monen eri oppiaineen sisältämää tietoa käytetään luovasti. Oppilaille voidaan luoda kokonaan oma tutkimus jostain ympäristön ilmiöstä, jota tutkitaan itse valitsemillaan työkaluilla ja menetelmillä. Ympäristökasvattajan tehtävä on luoda selkeä konteksti (= teema), jonka sisällä oppilaat pystyvät toimimaan ja kehittämään omaa ympäristötietoisuuttaan tekemällä esimerkiksi biologiaa ja kemiaa yhdistävän tutkimuksen meren ekosysteemistä. Tutkimuksen jälkeen opiskelijat esittelevät oman tutkimuksensa ja näin reflektivat uusia, opittuja asioita. [5.]

2.1.3 Ympäristöntutkimus ja -seuranta

Suomen luonto on yksi maailman puhtaimmista maista ja onkin listattuna ”Environmental Performance Index:n” (EPI) vuoden 2016 korkeimmalle sijalle. EPI:n tarkoitus on listata maailman maat kahden ympäristöön liittyvän kategorian mukaan; ihmisterveyden suojeleminen, sekä ekosysteemin suojeleminen. Suomi sai paljon pisteitä sen tavoitteista saavuttaen hiilineutraali yhteiskunta vuoteen 2050 mennessä ja töistä, jotka ovat jo tämän eteen tehty. Suomessa tuotetaan jo 2/3 energiasta uusiutuvilla luonnonvaroilla, sekä ydinvoimalla. [6.]

Euroopassa Euroopan Unionin (EU) elin, jonka tehtävänä on informoida EU maita ja maita Euroopan maa-alueen sisällä ympäristöasioista on Euroopan ympäristökeskus (EEA). EEA on perustettu vuonna 1990 ja itse virasto on aloittanut toimintansa Kööpenhaminassa, Tanskassa vuonna 1994. Sen toiminta on jakautunut neljään pääteemaan: ilma & ilmasto, luonto, kestävyys ja hyvinvointi, sekä taloudellinen vyöhyke. [7.] [8.]

Suomessa ympäristöön liittyvää tutkimus-, sekä asiantuntijatyötä tekee Suomen ympäristökeskus (SYKE), jonka tärkeä tehtävä on tarjota päätöksentekoon selkeästi esitettyä tietoa, jotta voidaan tehdä poliittisesti ja yksityisesti ympäristön kannalta parhaita päätöksiä. SYKE:n päästrategiaan kuuluu tutkia ja kehittää ekologisesti kestäviä tapoja elää maapallolla. [9.]

SYKE organisoii standardisoimistiryhmiä, jotka yhdessä Suomen standardisoimisliitto SFS ry:n kanssa luovat ympäristöön liittyviä menetelmästandardeja. Ryhmiin kuuluu useiden eri organisaatioiden aiheiden asiantuntijoita, jotka tarvittaessa voivat konsultoida ulkopuolisia tahoja lausuntojen tekemisessä. SYKE:n SFS standardien standardoimisvastuualueeseen kuuluvat veden laatu, mikrobiologiset vesitutkimusmenetelmät, sekä maaperätutkimusmenetelmät. [10.]

2.2 Ympäristökemia

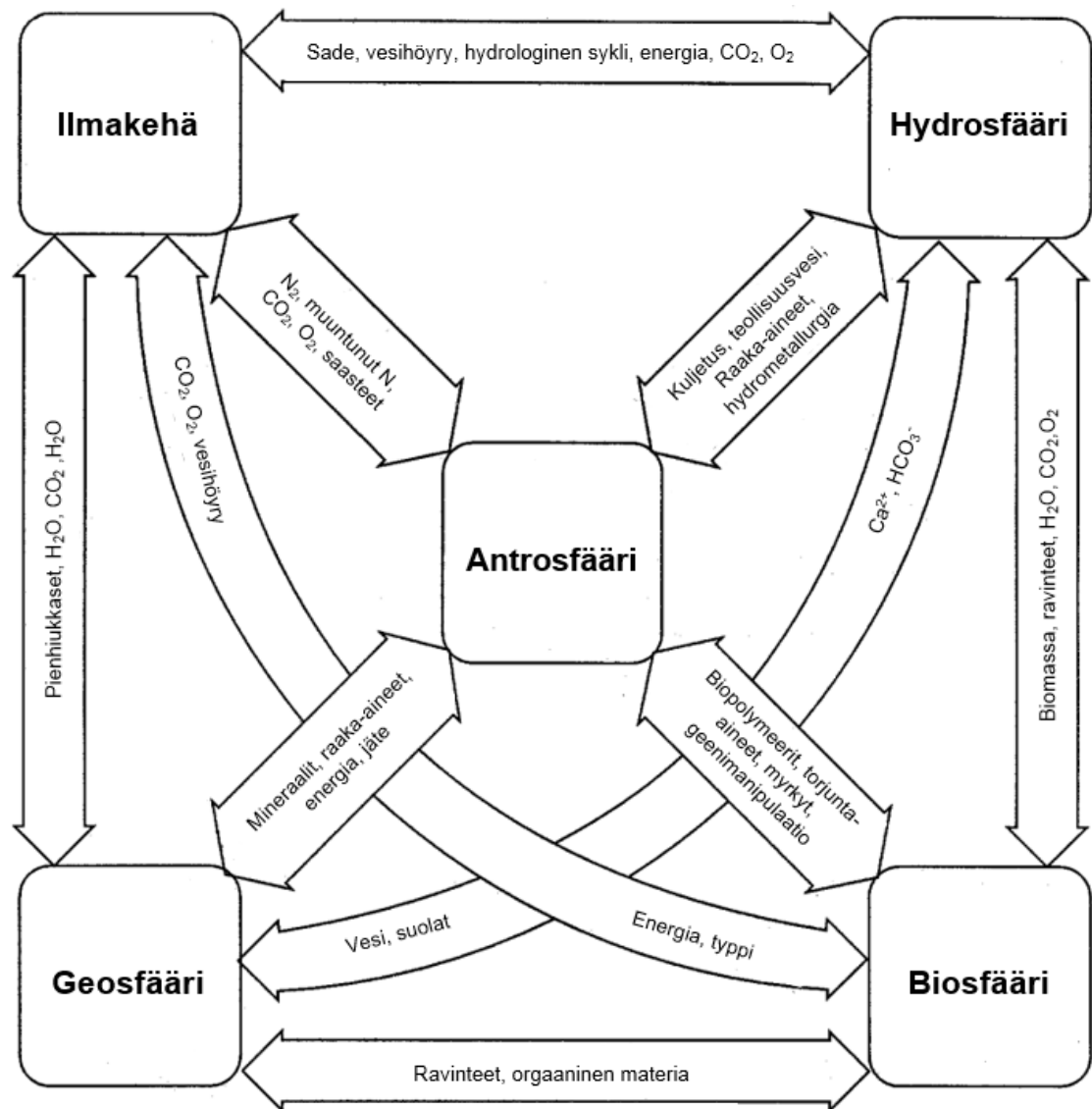
Ympäristökemiaa käsitellään selkeyden vuoksi Stanley Manahanin kirjan ”Environmental science, technology, and chemistry” kirjan määritelmien mukaan, sillä ympäristökemian kokonaisuutena voi määritellä monella tavalla. Kaikki eri oppikirjojen määritellyt kokonaisuudet kuitenkin tiivistyvät samoihin teemoihin, joista myös mainitussa kirjassa puhutaan.

Ymmärrys ympäristökemiasta voi olla vain niin hyvä, kuin tuntemus ympäristön sisältämistä epäpuhtauksista ja niiden analysointimenetelmien oikeanlaisesta toteutuksesta omataan. Ympäristökemia onkin siten erittäin laaja kirjo erilaisia ympäristön tarkastelun menetelmiä, joita käytetään antropogeenisten epäpuhtauksien seuraamiseen ja tutkimiseen. Lähestulkoon mitä tahansa laboratorioissa käytössä olevaa menetelmää voi kutsua ympäristökemian sovellukseksi, jos konteksti on oikea. Tämän vuoksi kaikista eri menetelmistä kirjoittaminen on erittäin iso työ, joka ylittää tämän opinnäytetyön laajuuden. Ympäristökemian käsitteen ymmärtämiseksi on tärkeää ymmärtää ympäristötiedettä kokonaisuutena. [11. kpl 24.]

2.2.1 Ympäristötiede

Ympäristötiede laajimmillaan käsitettynä on tiede, joka tutkii monimutkaisia vuorovaikutuksia, jotka tapahtuvat niin maan sisässä, ilmakehässä, vedessä, elävässä

luonnossa tai antropologisessa ympäristössä. Perinteisesti ympäristötiede on jaettu juuri näihin viiteen ala-lajiin ja se siis pitää sisällään monia eri tieteen alalajeja, kuten esimerkiksi kemiaa, fysiikkaa, biologiaa tai ekologiaa. Tieteenaloja, jotka koskevat ympäristöä ja sen vuorovaikutuksia. Kuvassa 1 on esitelty luonto ympäristötieteen näkökulmasta. [11. kpl 1.]



Kuva 1. Ympäristö ja sen vuorovaikutuksia [11. kpl 1.1]

2.2.2 Ympäristötieteen osa-alueet

Ilmakehä on maapalloa ympäröivä kerros kaasuja, joka eristää maan pinnan ulkoavaruuden ympäristöstä. Ilmakehä kuljettaa vettä mereltä maalle, se on

hiilidioksidin lähde kasveille ja typen lähde bakteereille. Ilmakehän tärkeä tehtävä on suojella maapalloa vahingolliselta ultraviolettisäteilyltä ja stabiloida maapallon lämpötilaa. Ilmakehänkemia pitää sisällään ilmamassojen liikkeitä, ilmakehän lämpötasapainon, ilmakehän kemiallisen koostumuksen sekä reaktiot. Ilmakehästä tyypillisesti analysoitavia asioita ovat kaasumaiset oksidit, hiilivedyt sekä kiinteät partikkelit. [11. kpl 1.3, 9.1]

Biosfäärillä tarkoitetaan kaikkea biologista. Biologia on elämän tiede ja sillä tarkoitetaan ympäristökemian kannalta ihmisten vaikutukset eläviin olentoihin ja elävään ympäristöön. Biosfääriin eniten vaikuttava asia on muut ympäristön osat: elävät olennot voivat esimerkiksi vapauttaa veteen myrkyllisiä yhdisteitä, joiden tunteminen on tärkeää, jotta voidaan tunnistaa antropogeeniset ympäristön kontaminaatiot luonnon omista biokemiallisista prosesseista. [11. kpl 1.3]

Geosfäärillä kuvataan maapallon kiinteää, epäorgaanista materiaalia. Maapallo on jaettu useaan kerrokseen, jotka listattuna sisältä ulospäin ovat; kiinteä ydin, sula ydin, vaippa, sekä kuori. Geologia on sen tutkimiseen erityisesti keskittyvä tieteenala. Ympäristökemiallisesti eniten keskitytään vaipan uloimpiin osiin, sekä maan kuoreen, koska syvempien kerroksien kemiallinen tutkiminen on hyvin haastavaa. Geosfääri koostuu pääosin mineraaleista, joita tunnetaan yli 2000. Näistä kuitenkin vain 25 on kiveä muodostavia mineraaleja, jotka muodostavat suurimman osan maan kuoresta. Koska geosfääri on kosketuksessa ilmakehän kanssa, voivat ilmakehän muutokset vaikuttaa siihen merkittävästi. Esimerkiksi happosateet voivat aiheuttaa maan kuoressa kemiallisia muutoksia. Myös maan kaivaminen saattaa vaikuttaa geosfäärin kemiallisiin ominaisuuksiin isossa mittakaavassa. [11. kpl 1.3, 15.1.]

Antrosfäärillä eli antropogeenisellä ympäristöllä tarkoitetaan ihmisen rakentamaa ympäristöä, sekä ihmisen kehittämää teknologiaa. Teknologialla tarkoitetaan ihmisten tapoja tehdä asioita energialla ja materiaaleilla. Ihmisen teknologinen kehitys on kasvanut kiihtyvää vauhtia ja ennen tämän vaikutusta ympäristöön ei ole historiallisesti huomioitu juurikaan: on ajateltu, että maapallon luonnonvarat ovat loputtomia. Toisaalta teknologia mahdollistaa myös ympäristön tehokkaan suojelun, sekä sen tutkimisen. Tulevaisuudessa ympäristön kannalta on hyvin tärkeää, että teknologian kehitys tapahtuu ympäristöä ajatellen ja sitä säästäen. Ympäristökemian kaikki sovellukset ovat antrosfääriin kuuluvia menetelmiä. [11. kpl 1.3, 2,1.]

Hydrosfäärillä kuvataan maapallon kaikkea vettä. Vesi on osa kaikkia ympäristötieteen sfäärejä ja se on kaikkein tärkein kemiallinen yhdiste ympäristökemiassa. Ilmakehässä vettä esiintyy vesihöyrynä, biologiset organismit tarvitsevat vettä elääkseen, maan pinnan alla on pohjavettä ja teknologiassa vesi voi toimia esimerkiksi jäähdyttimenä. Vedellä on kemiallisesti monia uniikkeja ominaisuuksia, jotka voidaan selittää sen rakenteella. Vesimolekyyli on poolinen, koska happiatomi elektronegatiivisempana pitää vesimolekyylin elektronit lähempänä itseään aiheuttaen vetyatomeille osittain positiivisen varakusen, ollessaan itse osittain negatiivisesti varautunut. Tämä ominaisuus on syy, miksi monet ioniyhdisteet, sekä suolat liukenevat vedessä. Toinen vesimolekyylin kemiallisesti tärkeä ominaisuus on sen kyky muodostaa vetysidoksia. Vetysidoksessa osittain positiivinen vetyatomi yhdistyy osittain negatiivisen hapen tai typen kanssa. Nämä ominaisuudet esimerkiksi nostavat veden suhteellisen kiehumislämpötilan todella korkeaksi, tekevät vedestä hyvän ravinteiden kuljetusaineen, sekä antavat sille korkean pintajännitteen. [11. kpl 1.3, 3.2.]

2.3 Vesianalytiikka

Veden analysointiin on olemassa monia eri tekniikoita, joista yleisesti käytössä olevia ovat mm. kromatografiset menetelmät, titrimetria, spektroskooppiset menetelmät, sekä näytteen atomisointiin perustuvia tekniikoita, kuten induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometria. Opinnäytetyössä käytettyjä menetelmiä olivat spektroskooppiset menetelmät, sekä titrimetriset menetelmät. Tyypillisesti vedestä tutkitaan taulukossa 1 esitettyjä suureita. [12. Sisällys.]

Taulukko 1. Tyypillisiä luonnonvesistä tutkittavia asioita [11. kpl 7.1]

Tutkittava suure	Merkitys ympäristölle
Hivenaineet	Ihmisterveys, merenelävät, myrkyllisyys
Raskasmetallit	Ihmisterveys, merenelävät, myrkyllisyys
Metalliorgaaniset yhdisteet	Kehon metallinkuljetus
Radionukleidit	Myrkyllisyys
Epäorgaaniset epäpuhtaudet	Myrkyllisyys, merenelävät
Asbesti	Ihmisterveys
Ravinteet	Rehevöityminen
Happamuus	Vedenlaatu, merenelävät
Myrkylliset hivenaineet	Myrkyllisyys
Polyklooratut bifenyylit	Mahdolliset biologiset vaikutukset
Torjunta-aineet	Myrkyllisyys, merenelävät, villieläimet
Öljysaasteet	Vaikutus villieläimiin, estetiikka
Viemärijäte	Vedenlaatu, happitaso
Biokemiallinen hapentarve	Vedenlaatu, happitaso
Patogeenit	Ihmisterveys
Puhdistusaineet	Rehevöityminen, villieläimet, estetiikka
Kemialliset karsinogeenit	Syövänaiheuttaja
Sedimentti	Vedenlaatu, merenelävät, villieläimet
Maku, haju ja väri	Estetiikka

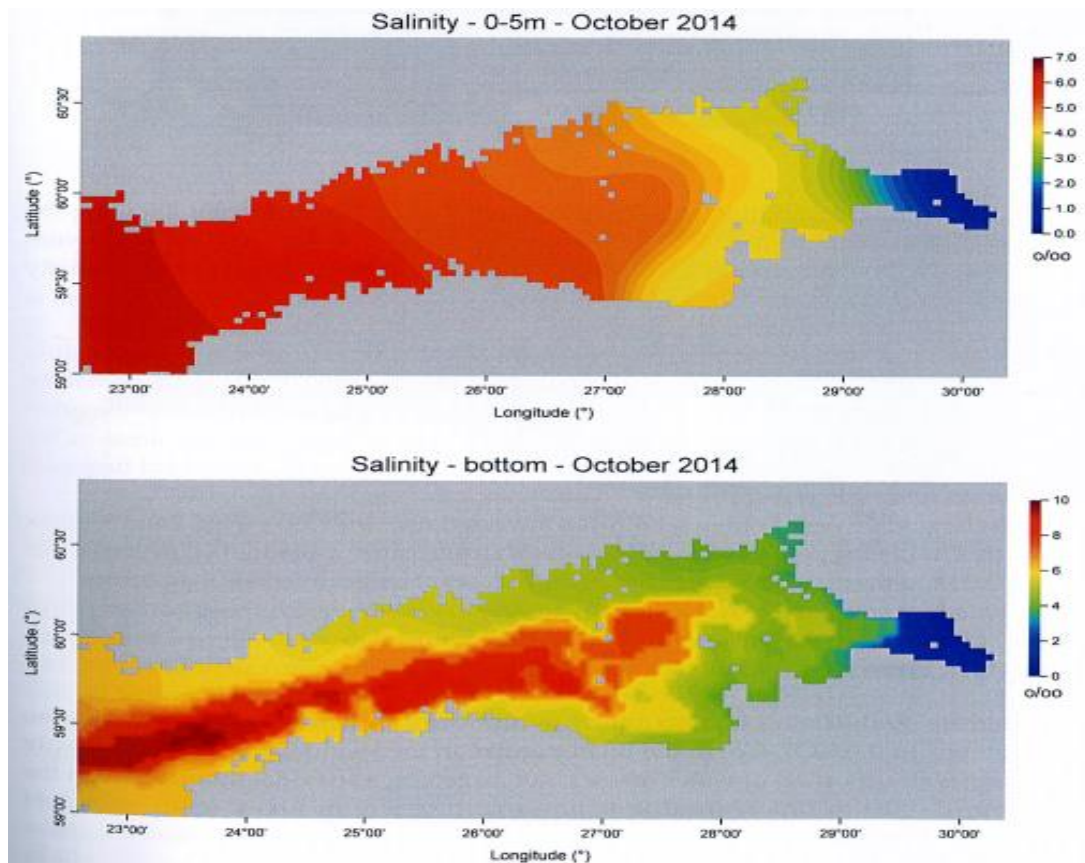
2.3.1 Merivesi näytteenä

Merivesi täyttää noin 2/3 maapallon pinta-alasta ja se pitää sisällään suurimman osan, noin 97 %, maapallon vesivaroista. Loput vedestä on makeaa vettä. Meriveden erottaa makeasta vedestä siihen liuenneet suolat. Merivedessä on noin 35 g/l (3,5 %) eri suoloja: CaCO_3 (0,12 g/l), $\text{CaCO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,75 g/l), NaCl (29,7 g/l), MgSO_4 (2,48 g/l), MgCl_2 (3,32 g/l), NaBr (0,55 g/l) sekä KCl (0,53 g/l). [4. s. 452]. Suolojen lisäksi merivesi sisältää epäorgaanisia ravinteita, liuenneita kaasuja, metalleja, sekä orgaanisia yhdisteitä. Taulukossa 2 on tarkemmin valtamerien meriveden sisältämien aineiden pitoisuuksia. [14.]

Taulukko 2. Valtamerien meriveden alkuainekoostumus atomimassojen mukaan järjestettynä [15.]

Alkuaine	Keskimääräinen konsentraatio
Litium	174 µg/l
Boori	4,5 mg/l
Hiili	27,6 mg/l
Typpi	420 µg/l
Fluori	1,3 mg/l
Natrium	10,77 g/l
Magnesium	1,29 g/l
Alumiini	540 ng/l
Pii	2,8 mg/l
Fosfori	70 µg/l
Rikki	0,904 g/l
Kloori	19,354 g/l
Kalium	0,399 g/l
Kalsium	0,412 g/l
Mangaani	14 ng/l
Rauta	55 ng/l
Nikkeli	0,5 µg/l
Kupari	0,25 µg/l
Sinkki	0,4 µg/l
Arsenikki	1,7 µg/l
Bromi	67 mg/l
Rubidium	120 µg/l
Strontium	7,9 mg/l
Kadmium	80 ng/l
Jodi	50 µg/l
Cesium	0,29 µg/l
Barium	14 µg/l
Elohopea	1 ng/l
Lyijy	2 ng/l
Uraani	3,3 µg/l

Meriveden kemiallinen koostumus on pääosin samanlainen ympäri maailmaa, joitain poikkeuksia lukuun ottamatta. Suomen ympäristön kannalta tärkein meri on Itämeri ja erityisesti sen lahdet: Suomenlahti ja Pohjanlahti. Itämeri on murtovettä, eli sekoitus makeaa vettä ja merivettä. Suomenlahtea voidaan kuvailla Nevajoen ja Gotlannin altaan estuaariksi, eli joenlaskualtaaksi. Suomenlahden ja Pohjanlahden suolapitoisuus laskee suhteessa etäisyyteen Tanskansalmeen (kuva 2). [16. s. 42.]



Kuva 2. Suomenlahden saliniteetin nousu Itämerästä lähestyttäessä [‰, g/kg] [16. s. 43]

Kun puhutaan merien ravinnepitoisuuksista, tarkoitetaan typpi- ja fosforiravinteita. Itämeren ravinneainepitoisuus on korkeampi, kuin maailman merillä yleisesti, sillä veden vaihtuvuus on hidasta ja mereen laskee useita jokia, joissa on paljon maataloudesta aiheutuvia ravinteita. Lisäksi merellä seilaa noin 2000 suurta alusta joka päivä lisäämässä meren kuormitusta. Nämä yhdessä kuormittavat merta ja aiheuttavat korkean ravinnepitoisuuden suhteessa maailman muihin meriin. Suurin osa ravinnekuormituksesta on ihmisen toiminnan aiheuttamaa, mutta osa siitä on myös meren oman ekosysteemin tulosta. [17.]

2.3.2 Näytteenotto

Kuten kaikessa tutkimuksessa, vesinäytteenotto on erittäin tärkeä osa analyttistä prosessia. Suurin osa analyyseistä saatavista epävarmuudesta, virhetuloksista ja kontaminaatioista johtuu puutteellisesta näytteenotosta. Usein näytteenotossa on otettava huomioon näytteen säilöminen analyysejä varten. Tutkittavat aineet saattavat haihtua, muuttaa muotoaan tai sitoutua näyteastian seinille. Tämän vuoksi

näytteenottoa on suunniteltava perusteellisesti etukäteen: näytteenottostrategiaan kuuluu näytteenottopaikka, näytteenottoajankohdat, näytteenottotiheys, näytteen koko, näyteastia, näytteiden määrä, sekä näytteenottotekniikan- ja laitteiden valinta. [18. s. 1 – 16.]

Pintavesinäytteet voidaan kerätä suoraan veneestä näyteastiaan, kunhan otetaan tuulen suunta suhteessa veneeseen huomioon kontaminaation välttämiseksi. Usein pintavesinäyte otetaan 0,3 - 1 metrin syvyydestä, jotta ilmakehän interferenssi jäisi minimaaliseksi. Monissa pinnan alla operoitavissa näytteenottimissa on mekanismi, joka avaa näytteenottimen vasta pinnan alla, jotta saataisiin vettä vain halutusta syvyydestä. Tällaiset mekanismit alkavat tuottaa ongelmia paine-eron vuoksi noin 100 m syvyydessä ja luotettavan syvävesinäytteen saaminen on huomattavasti haastavampaa ja sitä varten on kehitetty erityisiä vesinäytteenottotekniikoita. Yksi ratkaisu tälle ongelmalle on rakentaa näytteenotin kestävästä materiaalista ja täyttää se paineistuskaasulla. Oikeassa syvyydessä näytteenotin avataan ja kaasu korvautuu näytevedellä. Tällaisella systeemillä voidaan periaatteessa ottaa näyte mistä tahansa syvyydestä. [12. s. 1 – 17.]

2.3.3 UV/Vis-spektrofotometria

UV/Vis-spektrofotometria on aineen tutkimusmenetelmä, joka perustuu valon imeytymiseen, eli absorboitumiseen materiaaliin sähkömagneettisen spektrin ultraviolettivalon, sekä valon näkyvällä alueella (noin 100 nm - 800 nm). Laite itsessään mittaa transmittanssia, jota voidaan kuvata valon imeytymisenä materiaaliin. Sen arvo vaihtelee 0 ja 1 välillä; 0 tarkoittaa, ettei yhtään valoa läpäise näytettä ja 1, että yhtään valoa ei imeydy näytteeseen. Transmittanssi siis määritetään seuraavasti:

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (1)$$

T = Transmittanssi

P = Mitattu valon intensiteetti

P_0 = Lähtevän valon intensiteetti

Absorbanssi on määritelty transmittanssista kaavalla:

$$A = \log\left(\frac{P}{P_0}\right) = -\log(T) \quad (2)$$

A = Absorbanssi

Absorbanssia käytetään yleisesti, koska absorbanssin arvo antaa lineaarisen vasteen konsentraation suhteen. Absorboituneen valon määrä suhteessa aineen konsentraatioon voidaan laskea Lambert-Beerin yhtälön mukaan:

$$A = \epsilon bc \quad (3)$$

ϵ = Molaarinen absorptiokerroin [$1/(M \cdot cm)$]

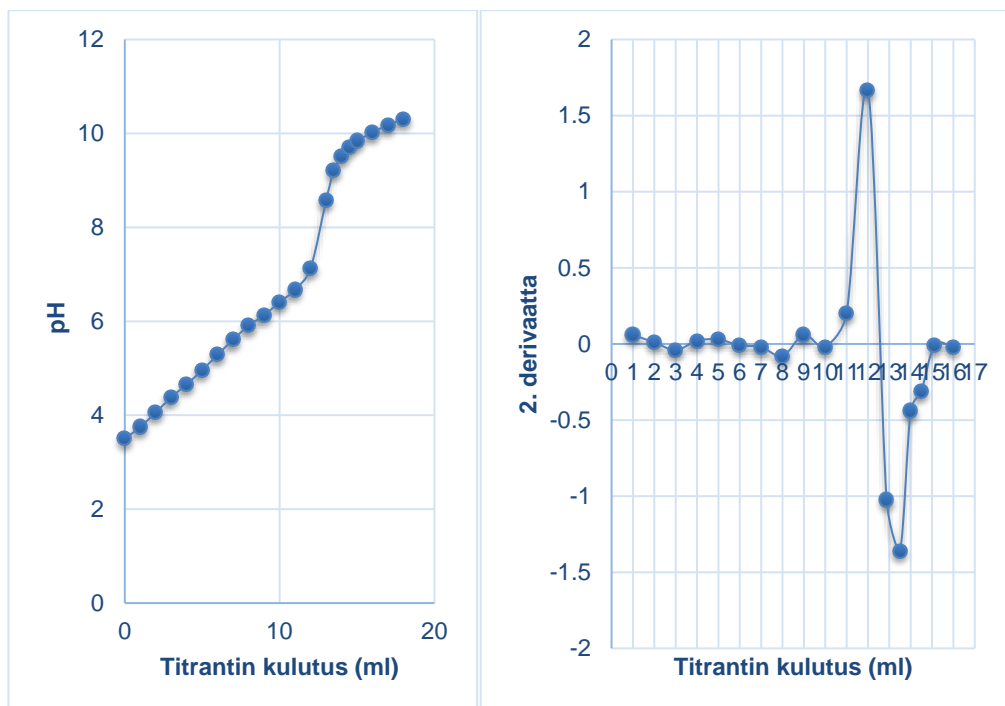
b = Säteilyn näytteessä kulkema matka [cm]

c = Konsentraatio [M]

Molaarinen absorptiokerroin kuvaa, kuinka paljon valoa imeytyy tietyllä aallonpituudella tunnettuun aineeseen [19. s. 432 - 444].

2.3.4 Titrimetria

Titraus perustuu titrantin lisäämiseen analyttiin niin kauan kunnes aineiden reaktio on tapahtunut näyteastiassa loppupisteeseen asti. Loppupisteen jälkeen näytteen fysikaaliset ominaisuudet, kuten väri tai pH, muuttuvat selkeästi, josta voidaan havaita kyseinen piste reaktiolle. Ekvivalenttipisteeksi kutsutaan titrauksen teoreettista loppupistettä, mutta tämän suoraan havaitseminen on hankalaa. Tämän vuoksi sen laskemiseen käytetään usein titrauskäyrää. Titrauskäyrässä ekvivalenttipiste on käyrän jyrkin kohta, joka on helppo löytää käyrän toisen derivaatan avulla. Ekvivalenttipiste on toisen derivaatan nollakohta.



Kuva 3. Titruskäyrä, sekä kyseisen käyrän toinen derivaatta

Kun tunnetaan tapahtuva reaktio ja kun reaktion tasapaino on vahvasti lopputuotteen puolella, voidaan titrantin kulutuksesta laskea näytteen pitoisuus kaavalla 4, jos titrantin, ja analyytin ainemäärät reagoivat 1:1 suhteessa.

$$x = \frac{c \cdot V_1}{V} \quad (4)$$

x = Näytteen pitoisuus

c = Titrantin konsentraatio

V_1 = Titrantin kulutus, tilavuus

V = Näytteen tilavuus

Tyypillisiä titrausreaktioita ovat happo-emäsreaktio, hapetus-pelkistysreaktio, saostusreaktiot, sekä kompleksometriset reaktiot [19. s. 145 - 155]. Työssä käytetyt titrausmenetelmät olivat saostustitraus (Mohrin titraus) kloridille ja kompleksometrinen titraus kovuudelle.

3 Menetelmät

3.1 Työssä käytetyt analyysilaitteet

Työssä käytettiin kolmea analyysilaitetta: Perkin Elmer Lambda 25 spektrofotometri (PE), Lovibond PC 22 fotometri (Lovi), sekä Nanocolor 500 D fotometri (Nano). PE antaa tuloksen suoraan absorbanssina (A), Lovi milliabsorbanssina (mA) ja Nano prosenttisena transmittanssina ($\%T$). Tulokset muutettiin samaksi yksiköksi, A , seuraavilla laskukaavoilla:

$$\text{Lovi; } mA/1000 = A \quad (5)$$

mA = milliabsorbanssi

$$\text{Nano; } 2 - \log(\%T) = A \quad (6)$$

$\%T$ = prosentuaalinen transmittanssi

Lisäksi jokaisella analyysilaitteella oli erimalliset kyvetit. PE:n kyvetit olivat 10 mm lasikyvettejä, Nano:n kyvetit olivat laitteeseen erikseen suunniteltuja koeputkia, Lovi:n kyvetit olivat laitteen omia noin 11 mm lasikyvettejä. Laitteiden erilaisten kyvettien vuoksi absorbanssiarvoja ei voitu verrata suoraan.

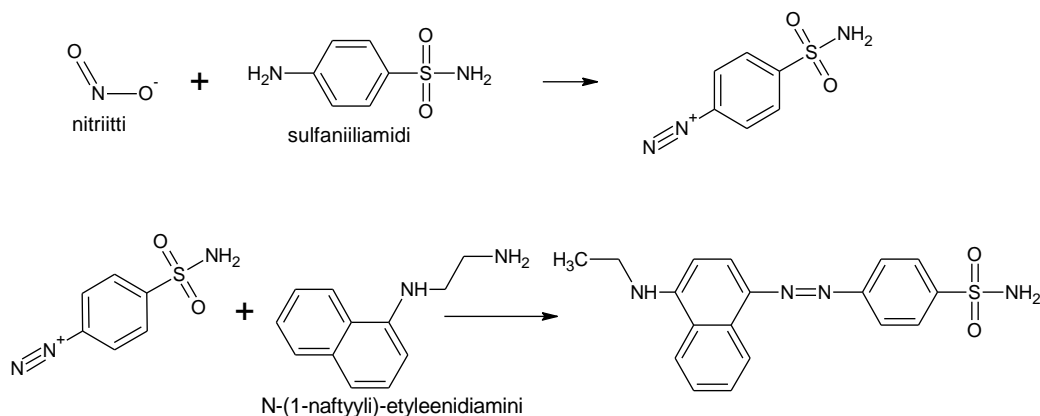
3.2 Työssä käytetyt analyysimenetelmät

Työssä uudistettaviksi menetelmiksi valittiin nitriitti- ja fosfaattimenetelmät, koska niillä voidaan kuvata meriveden rehevöitymistä. Kloridi- ja kovuusmenetelmät valittiin, koska niillä tutkitaan mereen liuenneita ioneja. Näiden analyysien kautta voidaan oppilaille opettaa meriveden kemiaa, vaikka yleensä kloridi- ja kovuusanalyysyjä tehdäänkin talousvedestä.

3.2.1 Nitriittimääritys

Veden nitriittipitoisuuden voi määrittää standardin SFS 3029 ohjeen mukaan antamalla sen reagoida sulfaniiliamidin kanssa happamissa olosuhteissa muodostaen diatsoyhdisteen, joka reagoi N-(1-naftyyli)-etyleenidiaminin kanssa muodostaen

atsoväriaineen. Tämän väriaineen intensiteettiä mitataan fotometrin aallonpituudella 545 nm.

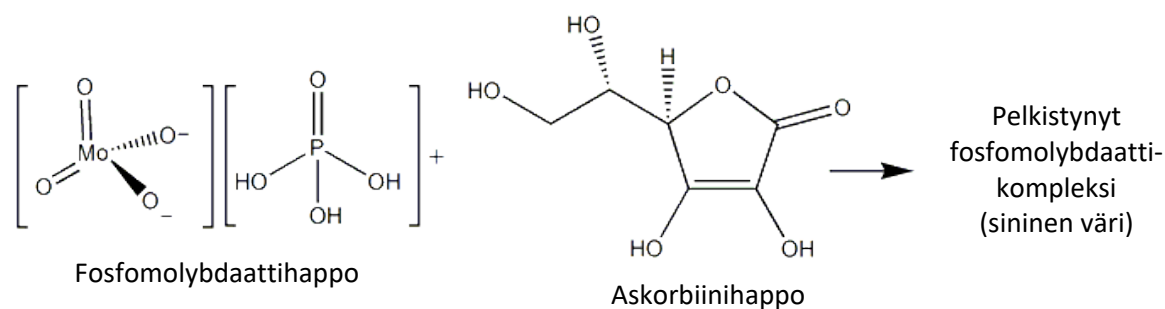


Kuva 4. Nitriittianalyysin reaktiot

Pitoisuus saadaan laskemalla se kalibrintisuoran avulla. [20.]

3.2.2 Fosfaattimääritys

Veden fosfaattipitoisuuden voi määrittää standardin SFS 6878 ohjeen mukaan antamalla fosfaatti-ionien reagoida happamissa olosuhteissa molybdaatti-ionien kanssa muodostaen fosfori-molybdaattikompleksin. Kompleksi katalysoi fosfaatin pelkistymään askorbiinihapon lisäyksestä, jolloin liuos muodostaa värillisen molybdenium sininen -kompleksin. Fosfaattipitoisuus voidaan määrittää mittaamalla värin intensiteettiä fotometrillä aallonpituudella 880 nm. Pitoisuutta voi mitata myös aallonpituudella 700 nm, jos noin 30 % tarkkuudenmenetys on hyväksyttävissä.



Kuva 5. Fosfaattityön reaktioyhtälö [21.]

Pitoisuus saadaan laskemalla se kalibrintisuoran avulla. [22.]

3.2.3 Kloridimääritys

Veden kloridipitoisuus määritetään standardin SFS 3002 mukaan titraamalla vesinäyte hopeanitraattiliuoksella, käyttäen kaliumkromaatti-indikaattoria. Titrauksen loppukohdan osoittaa punaisen hopeakromaatin saostuminen näyteastiaan; liuoksen vaihtaessa väriä titraus lopetetaan. Yhtälöissä 7 ja 8 on esitetty työssä tapahtuva reaktio. [23.]

Titrauksen aikana kloridi-ionit saostuvat valkoisena hopeakloridina:



Kun kloridi on kulutettu loppuun, sitoutuu hopea indikaattoriin muodostaen punaisen saostuman:



Pitoisuus lasketaan kaavalla:

$$\rho_{Cl} = (V_1 - V_2) * c * 35,45 * \frac{1000}{V_3} \quad (9)$$

ρ_{Cl} = Näytteen kloridipitoisuus [mg/l]

V_1 = Näytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

V_2 = Nollanäytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

c = Hopeanitraattiliuoksen konsentraatio [mg/l]

V_3 = Määritykseen käytetty näytilavuus [ml]

35,42 = Kloridin moolimassa [g/mol]

1000 = Muuntokerroin [mg/g]

3.2.4 Kovuusmääritys

Veden kovuus, eli magnesiumin ja kalsiumin summa määritetään SFS-standardin 3003 mukaan titraamalla näyte etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA) -liuoksella pH 10:ssa. Eriokromimusta T:n (ERIO T) toimii indikaattorina määrittäessä, jonka vuoksi pH:n on oltava välillä 9,4 - 10,4, koska ERIO T:n väri on punainen matalassa pH:ssa ja oranssi korkeassa pH:ssa. pH 10:ssä ERIO T:n väri on sininen. [19. s. 278 – 279.]

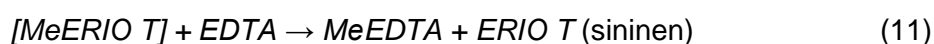
Titrauksen alussa ERIO T muodostaa viininpunaisen kompleksin magnesiumin ja kalsiumin kanssa. Koska ERIO T sitoo metalleja heikommin kuin EDTA, sitoo EDTA

metallit pois titrauksen aikana ERIO T:stä, kunnes indikaattorin oma väri vapautuu ja liuos muuttuu siniseksi. Yhtälöissä 10 ja 11 on esitetty työssä tapahtuvat reaktiot. [24.]

Kun indikaattori lisätään, sitoutuu se metalleihin muodostaen punaisen kompleksin:



Titrauksen lopussa kaikki metallit ovat sitoutuneina EDTA:aan ja indikaattorin oma väri vapautuu:



Me = magnesium + kalsium

Pitoisuus lasketaan kaavalla:

$$x = \frac{1000 \cdot c \cdot V_1}{V} \quad (12)$$

x = Kalsiumin ja magnesiumin summa [mmol/l]

c = EDTA -liuoksen konsentraatio [mol/l]

V_1 = Titraukseen kulunut EDTA -liuoksen tilavuus [ml]

V = Näytteen tilavuus [ml]

1000 = Muuntokerroin [mmol/mol]

Koska EDTA muodostaa komplekseja useiden metallien kanssa, on kovuutta määritettäessä naamioitava muita näytteessä olevia metalleja syanidilla. Syanidi kompleksoi seuraavia metalli-ioneja Cd^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Cu^+ , Ag^+ , Ni^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Fe^{2+} ja Fe^{3+} . [19. s. 281.]

3.3 Työssä käytetyt kemikaalit

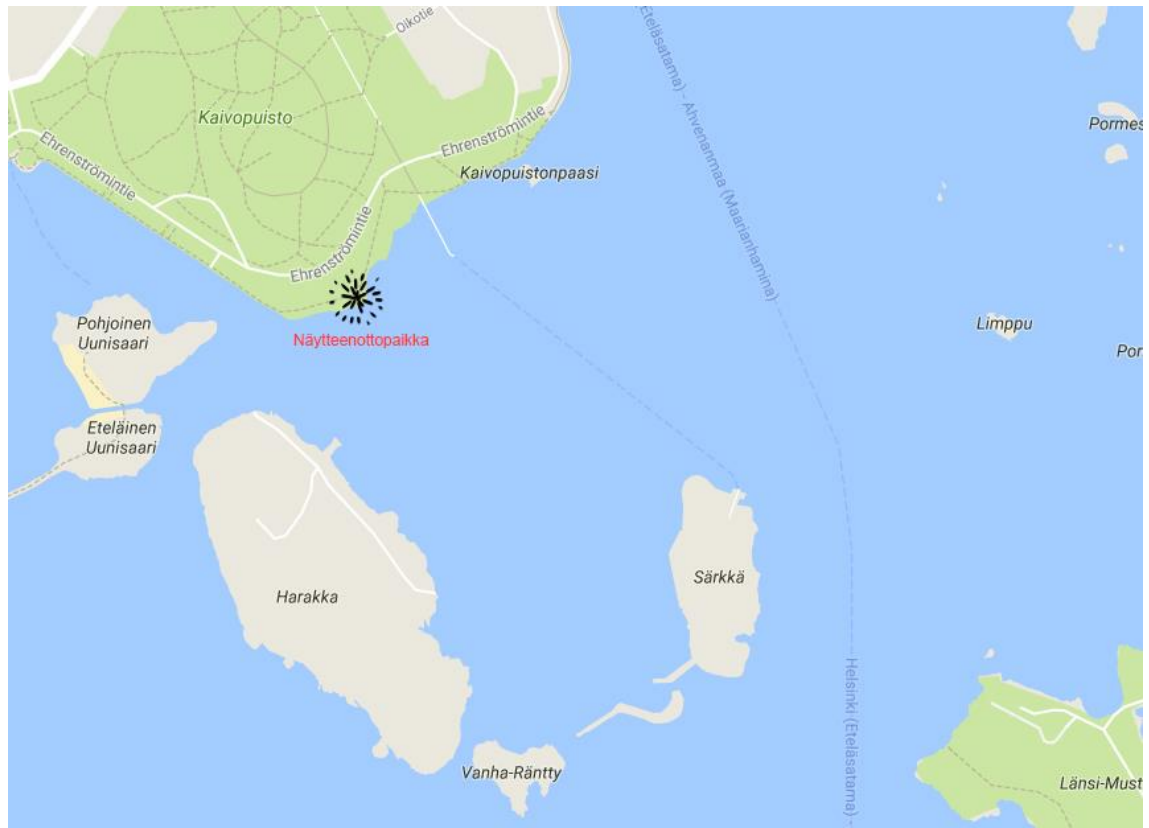
Työssä käytettiin taulukossa 3 listattuja kemikaaleja.

Taulukko 3. Kemikaaliluettelo

Nitriittityö	Valmistaja	Puhtaus
Suolahappo	VWR	~ 37%
Sulfiiniamidi	Merck	min. 99 %
N-(1-naftyyli)-etyleenidiamiinidihydrokloridi	Merck	≥ 97.0 %
Nitriitti standardiliuos I	Merck	1000 mg/l ± 10 mg/l
Nitriitti standardiliuos II	Sigma Aldrich	1000 mg/l
Fosfaattityö		
Askorbiinihappo	VWR	~ 100%
Ammoniumheptamolybdaatti	Merck	~ 100%
Antimoni kaliumtartraatti hemihydraatti	BDH	~ 99,9 %
Fosfaatti standardiliuos	Sigma-Aldrich	1000 mg/l ± 4 mg/l
Kidevedellinen trikaliumfosfaatti	Merck	min. 98%
Kloridityö		
Kaliumkromaatti	Merck	~ 99,5 %
Hopeanitraatti	Opiskelijat, vuonna 2007	0,0284 mg/l
Kovuustyö		
Suolahappo	VWR	~ 37 %
Aminoetanoli	Sigma Aldrich	≥ 98 %
EDTA dinatriummagnesiumsuola	Fluka	~ 99%
Eriokromimusta T	J.T Baker	~ 100 %
Natriumkloridi	Sigma Aldrich	~ 100%
EDTA dinatriumsuola	Sigma Aldrich	~ 99%

3.4 Työn näytteenotto

Merivesinäytteet kaikkiin analyysihin haettiin polyeteenipulloihin suoraan rannasta aina ennen nitriittianalyysijä. Nitriittianalyyseistä ylijäänyt merivesi toimi näytteenä muihin analyysihin. Näytteiksi valittiin Kaivopuistonrannan merivesi, koska se vastaa opiskelijoiden todennäköistä näytematriisia Harakan laboratoriossa.



Kuva 6. Merivesinäytteenottopaikka Kaivopuistonrannassa, Helsingissä

Suomessa vesinäytteenotto tehdään usein standardin SFS 5667 mukaan, jossa käydään läpi koko näytteenotto-prosessi aina suunnittelusta näytteiden kuljetukseen ja säilömiseen. Työssä kyseistä standardia ei seurattu näytteenotossa, sillä haluttiin jäljitellä opiskelijoiden tekemää näytteenottoa.

4 Analyysit ja pohdinta

4.1 Nitriitti

Nitriittimenetelmän toimivuutta Harakan laitteilla testattiin Metropolian Onnentien laboratoriossa neljän päivän aikana kaikilla kolmella fotometrillä. Aluksi testattiin Lovi:n kahta eri aallonpituutta (528 nm sekä 580 nm) ja valittiin näistä paremman vasteen antanut (528 nm) mittauksia varten.

Työssä seurattiin SFS-standardin 3029 ohjeita seuraavilla muutoksilla:

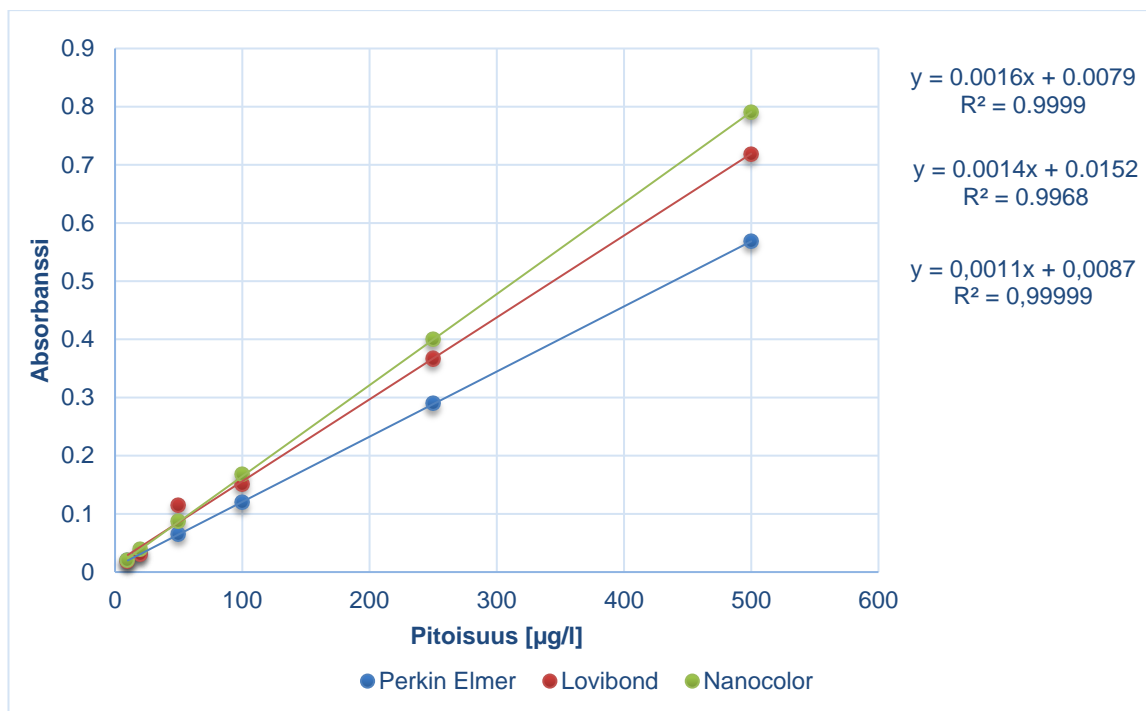
- Kalibrintiliuokset ja kontrolliliuokset valmistettiin kaupallisista 1000 mg/l nitriittiliuoksesta.
- Standardin kohta 5, esikäsittely, jätettiin tekemättä, koska merivesinäytteet eivät olleet sameita.
- Merivesinäytteiden mittaaminen suoritettiin noin 8 tuntia näytteenoton jälkeen, ei standardin mainitseman 5 tunnin kuluttua.

Näytettä otettiin 25 ml. Tähän lisättiin 0,5 ml sulfaniilamidiliuosta, sekoitettiin ja odotettiin 5 minuuttia. Odottamisen jälkeen lisättiin 0,5 ml N-(1-naftyyli)-etyleenidiamiini dihydrokloridiliuosta, sekoitettiin ja odotettiin 25 minuuttia. Odottamisen jälkeen suoritettiin mittaukset kaikilla laitteilla. Jokaisesta näytteestä suoritettiin kolme rinnakkaismittausta ja yhteensä nitriittianalyysjä tehtiin 102 kpl.

Nitriitin määrittäminen onnistuu hyvin Harakan laitteilla analyysitulosten valossa, sillä tulokset eivät poikenneet paljoa Metropolian laitteesta.

4.1.1 Kalibrintisuora

Nitriitti- kalibrintisuora valmistettiin kaupallisesta standardista liuottamalla se ionivaihdettuun veteen. Laskennalliset pitoisuudet olivat: 10 µg/l, 20 µg/l, 50 µg/l, 100 µg/l, 250 µg/l ja 500 µg/l. Kalibrintisuorat on esitetty kuvassa 7.

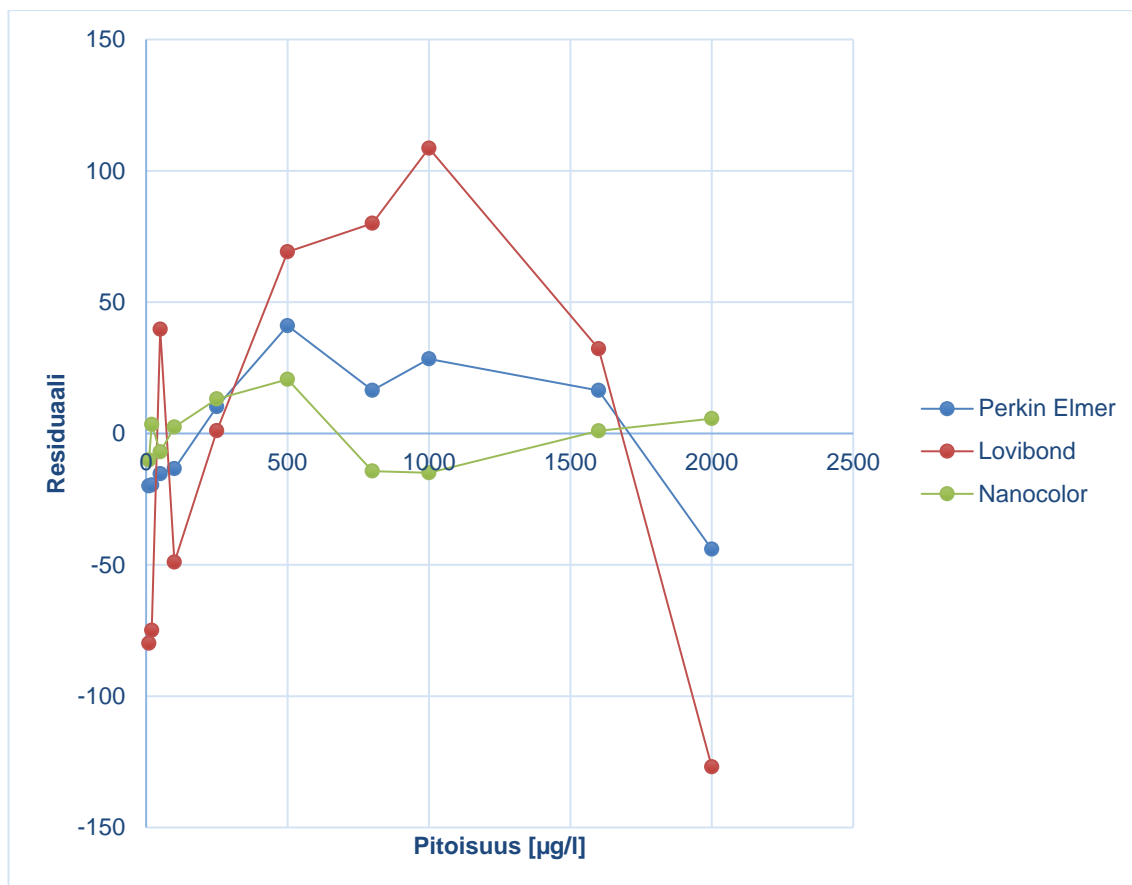


Kuva 7. Kalibrintisuorat, sekä niiden yhtälöt nitriittimäärittämiselle

Lineaarisuutta tutkittiin valmistamalla kantaliuoksesta 10 - 2000 µg/l vahvuiset kalibrintiliuokset ja mitattiin näiden absorbanssi. Saaduista tuloksista piirrettiin residuaalikuvaajat. Ylärajaksi valittiin 2000 µg/l, koska tämä ylittää meriveden todennäköisen kokonaistyyppipitoisuuden, 420 µg/l, reilusti (taulukko 2).

Taulukko 4. Lineaarisuuden määrittämis tulokset sekä suorien R² arvot

Nitriitti pitoisuus [µg/l]	PE [A]	Lovi [A]	Nano [A]
10	0,0232	0,0197	0,0158
20	0,0335	0,0360	0,0508
50	0,0676	0,1943	0,0799
100	0,1193	0,1520	0,1683
250	0,2921	0,3710	0,4075
500	0,5716	0,7193	0,7905
800	0,8457	1,0597	1,1849
1000	1,0567	1,3100	1,4815
1600	1,6419	1,8833	2,3979
2000	1,9798	2,1470	3,0000
Suorien R² arvo	0,9986	0,9877	0,9997



Kuva 8. Fotometrien residuaalikuvaajat nitriitille, 10 - 2000 µg/l

Residuaalikuvaajista näkyy trendi Lovi:lla ja PE:llä. Tämä tarkoittaa, että vahvoilla pitoisuuksilla tulokset eivät ole enää laitteiden lineaarisella alueella. Menetelmä on lineaarinen standardin ilmoittamalla alueella; 10 - 500 µg/l.

4.1.2 Määrittäysraja

Määrittäysrajaa tutkittiin pitoisuudella 5 µg/l, koska tämä pitoisuus oli puolet standardin mainitsemasta minimikalibrointialueesta, muttei kuitenkaan liian alhainen analyysitulosten saamiseen. kantaliuoksesta laimennettiin 10 kpl 5 µg/l liuosta mittauksia varten. Määrittäysraja laskettiin seuraavalla kaavalla:

$$\text{Määrittäysraja} = 10 * s \quad (14)$$

s = keskihajonta

Taulukko 5. Nitriitin määrittämisrajan pitoisuuksien keskihajonta, sekä määrittämisraja

	PE	Lovi	Nano
Pitoisuuksien keskihajonta	0,97 µg/l	3,13 µg/l	2,16 µg/l
Määrittämisraja	10 µg/l	30 µg/l	25 µg/l

Määrittämisrajat kummallakin Harakan laboratorion laitteilla olivat korkeahkot suhteessa niillä mitattuihin merivesipitoisuuksiin 9 µg/l ja 16 µg/l. PE:llä määrittämisraja on sama kuin standardissa mainittu mitta-alueen alaraja.

4.1.3 Näytteet

Näytteitä mitattiin yhteensä 28 kappaletta ja tuloksista laskettiin keskiarvo, sekä luottamusväli 95 % luottamustasolla.

Taulukko 6. Nitriitti näytteiden pitoisuuksien keskiarvot, sekä luottamusväli (95 %)

	PE	Lovi	Nano
Laskettu pitoisuus	21 µg/l	9 µg/l	16 µg/l
Luottamusväli 95 %	± 6 µg/l	± 17 µg/l	± 3 µg/l

Tulokset vaihtelivat analyysimenetelmän mukaan hieman. Lovin ja Nanon tulokset jäivät alle niiden määrittämisrajojen.

4.1.4 Kontrollinäytteet

Kontrollit valmistettiin eri kantaliuoksesta kuin kalibrointisuoran liuokset. Kontrollien pitoisuuksiksi valittiin 20 µg/l, 24 µg/l, 240 µg/l ja 400 µg/l. Liuokset analysoitiin ja laskettiin saantoprosentit kalibrointisuorien arvojen perusteella.

Taulukko 7. Mitatut nitriittikontrollien pitoisuudet

Pitoisuudet	PE	Lovi	Nano
20 µg/l	16,3 µg/l	11,0 µg/l	8,8 µg/l
24 µg/l	26,5 µg/l	16,8 µg/l	23,2 µg/l
240 µg/l	240,3 µg/l	235,0 µg/l	228,3 µg/l
400 µg/l	387,0 µg/l	383,2 µg/l	366,5 µg/l

Taulukko 8. Taulukon 7 pitoisuuksista lasketut saantoprosentit nitriitille

Saanto %	PE	Lovi	Nano
20 µg/l	81,5 %	54,8 %	44,0 %
24 µg/l	110,5 %	69,8 %	96,8 %
240 µg/l	100,1 %	97,9 %	95,1 %
400 µg/l	96,8 %	95,8 %	91,6 %

Tuloksista voi nähdä, että pienellä pitoisuudella menetelmien tarkkuus laskee huomattavasti. Tämä johtuu Lovi:lla ja Nano:lla siitä, että pitoisuudet olivat alle määritysrajojen.

4.1.5 Takaisinsaantokokeet

Takaisinsaantokokeissa näytteisiin lisättiin tunnettu määrä nitriittiä ja mitattiin näiden takaisinsaantoprosentit. Takaisinsaantokokeiden liuokset valmistettiin mittapulloissa mittaamalla 24 osaa näytettä ja 1 osa valmistettuja standardeja. Näytteiden saanto-% laskettiin laskukaavan 13 mukaan.

$$Saanto \% = \frac{Mitattu\ pitoisuus - \left(\frac{24\ ml}{25\ ml} * Näytteen\ pitoisuus\right)}{Lisätty\ teoreettinen\ pitoisuus\ [20\ \mu g/l,\ 160\ \mu g/l]} * 100\ \% \quad (13)$$

Takaisinsaantokokeiden pitoisuuksiksi valittiin 20 µg/l ja 160 µg/l, koska näiden valmistaminen reaktioastiassa oli johdonmukaista: pipetoitiin 1 ml väkevää kantaliuosta astiaan ja laimennettiin näytteellä merkkiin.

Taulukko 9. Nitriitin takaisinsaantokokeiden tulokset

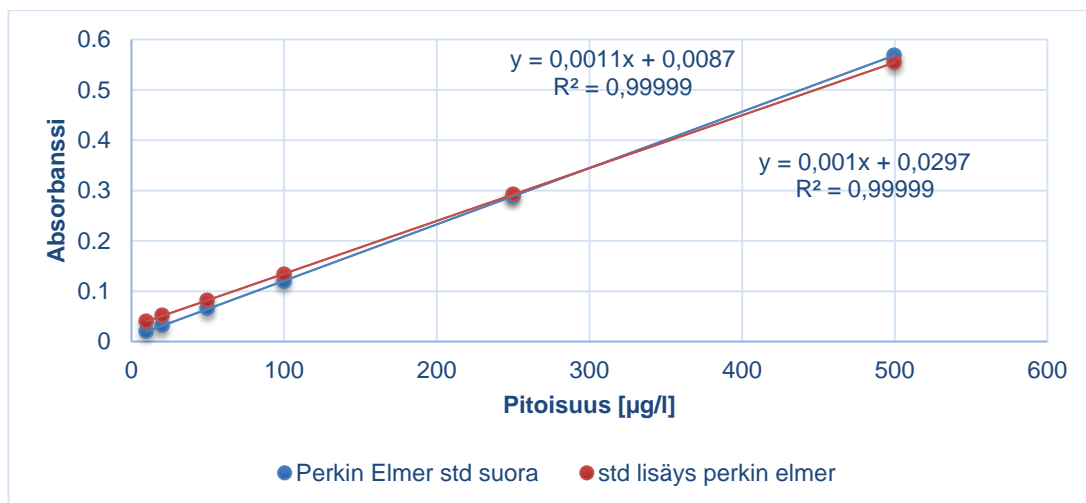
Lisätty pitoisuus 20 µg/l	PE	Lovi	Nano
näyte 1	75,1 %	95,8 %	61,0 %
näyte 2	71,8 %	85,1 %	83,0 %
näyte 3	71,3 %	94,6 %	72,2 %
näyte 4	70,9 %	97,0 %	75,3 %
näyte 5	57,4 %	94,6 %	80,4 %
näyte 6	73,8 %	117,2 %	96,0 %
näyte 7	55,0 %	123,2 %	91,9 %
näyte 8	60,3 %	102,9 %	81,5 %
näyte 9	59,4 %	97,0 %	78,4 %
näyte 10	58,9 %	122,0 %	83,0 %
Keskiarvo	65,4 %	102,9 %	80,3 %
Keskihajonta	7,8 %	13,1 %	9,8 %

Lisätty pitoisuus 160 µg/l	PE	Lovi	Nano
näyte 11	98,3 %	102,7 %	92,9 %
näyte 12	94,5 %	96,9 %	90,6 %
näyte 13	95,2 %	99,6 %	90,4 %
näyte 14	95,1 %	99,8 %	91,6 %
näyte 15	94,4 %	102,3 %	94,2 %
näyte 16	95,7 %	100,8 %	94,2 %
näyte 17	95,4 %	105,9 %	95,3 %
näyte 18	95,2 %	105,0 %	95,9 %
näyte 19	96,0 %	103,5 %	96,0 %
Keskiarvo	95,5 %	101,8 %	93,5 %
Keskihajonta	1,2 %	2,8 %	2,2 %

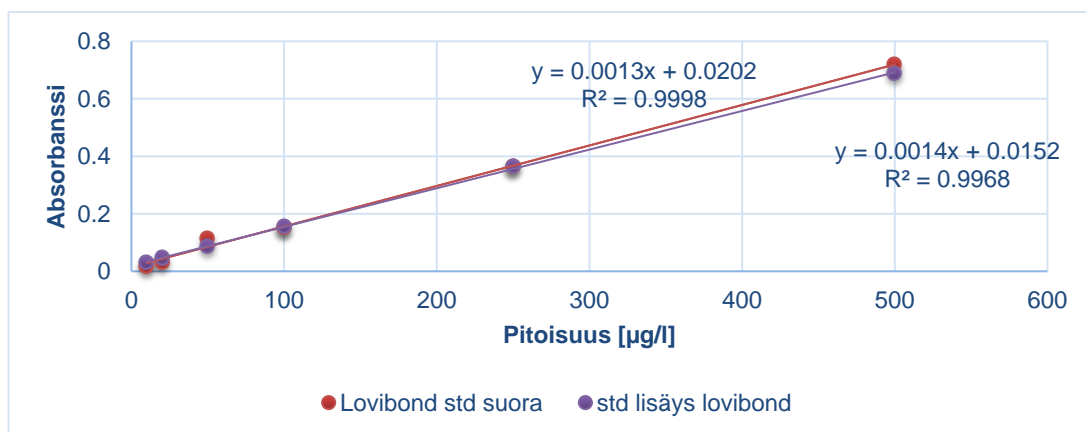
Saman näytteen tulokset vaihtelivat pienillä pitoisuuksilla eri laitteiden välillä, joka johtuu siitä, että mitattiin lähellä laitteiden määritysrajaa. Odotetusti suurilla lisätyillä pitoisuuksilla vastaavaa ongelmaa ei enää ollut ja saantoprosentit olivat paremmat.

4.1.6 Spesifisyys

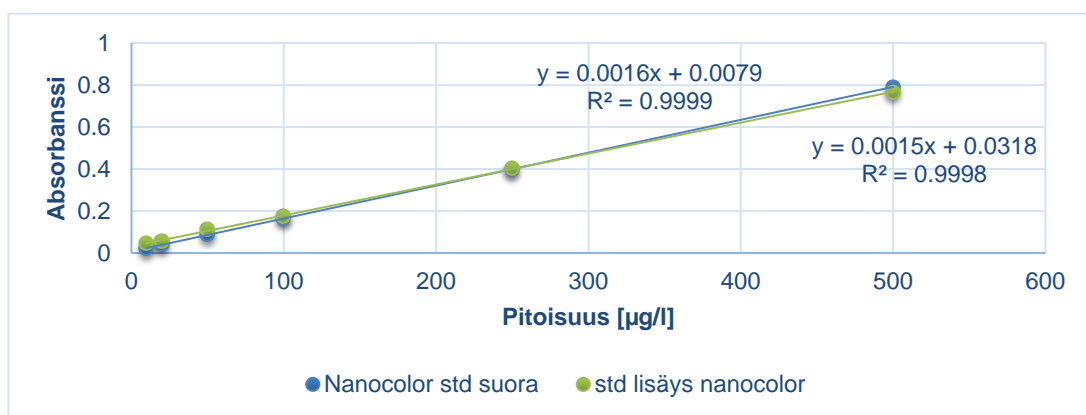
Standardinlisäyssuoria verrattiin kalibrointisuoriin ja laskettiin näiden kulmakertoimien prosentuaaliset erot. Standardinlisäyssuorat valmistettiin mittaamalla vakiomäärä vahvoja liuoksia ja laimentamalla ne merivedellä mittapullon merkkiin. Lopullinen suhde oli 2 % liuosta, 98 % merivettä. Saadut standardinlisäyssuoran pitoisuudet olivat 10 µg/l, 20 µg/l, 50 µg/l, 100 µg/l, 250 µg/l, sekä 500 µg/l.



Kuva 9. Perkin Elmer -spesifisyyttä nitriitille tutkittiin vertaamalla standardinlisäyssuoraa kalibrointisuoraan



Kuva 10. Lovibond-spesifisyyttä nitriitille tutkittiin vertaamalla standardinlisäyssuoraa kalibrointisuoraan



Kuva 11. Nanocolor-spesifisyyttä nitriitille tutkittiin vertaamalla standardinlisäyssuoraa kalibrointisuoraan

Kuvaajista voidaan nähdä, että matriisilla on hyvin pieni vaikutusta tuloksiin. Suorien kulmakertoimien prosentuaaliset erot ovat taulukossa 10.

Taulukko 10. Kulmakertoimien prosentuaalinen erotukset nitriitille

	PE	Lovi	Nano
Ero %	6,3 %	4,6 %	6,0 %

Matriisivaikutus on menetelmällä kuitenkin niin pieni, ettei sitä tarvitse ottaa huomioon Harakan laboratorion määrittelyssä.

4.1.7 Mittausepävarmuus

Laboratorion sisäistä uusittavuutta ja kokonaismittausepävarmuutta arvioitiin rinnakkaismäärittelysien ja kontrollinäytteiden avulla viemällä tulokset MuKit-ohjelmaan.

Taulukko 11. Nitriittimäärittelysien laskennalliset mittausepävarmuusarviot Mukit-ohjelmalla

Nitriitti	Konsentraatioalue	Laboratorion sisäinen uusittavuus	Poikkeama (u bias)	Laajennettu mittausepävarmuus
PE	10 µg/l - 500 µg/l	0,9 %	2,6 %	6,0 %
	10 µg/l - 2000 µg/l	0,9 %	2,6 %	6,0 %
Lovi	30 µg/l - 500 µg/l	2,0 %	3,4 %	8,0 %
	30 µg/l - 2000 µg/l	2,0 %	3,4 %	8,0 %
Nano	25 µg/l - 500 µg/l	2,7 %	5,0 %	12 %
	25 µg/l - 2000 µg/l	2,7 %	6,9 %	15 %

Laajennettu mittausepävarmuus jää kaikilla laitteilla varsin pieneksi. Nano:n korkein tulos johtuu todennäköisesti sen siitä, että laite antoi tulokset prosentuaalisena transmittanssina. Pieni numeraalinen muutos rinnakkaismäärittelysien tuloksissa saattoi kasvaa suuremmaksi, kun tulos muutettiin absorbanssi-muotoon.

4.2 Fosfaatti

Fosfaatti määritettiin Metropolian Onnentien laboratoriossa sekä Harakan ympäristökeskuksen laboratoriossa noin kuukauden aikana. Lovi:n fotometriä ei testattu menetelmälle, sillä sen korkein mahdollinen mittausaallonpituus oli liian

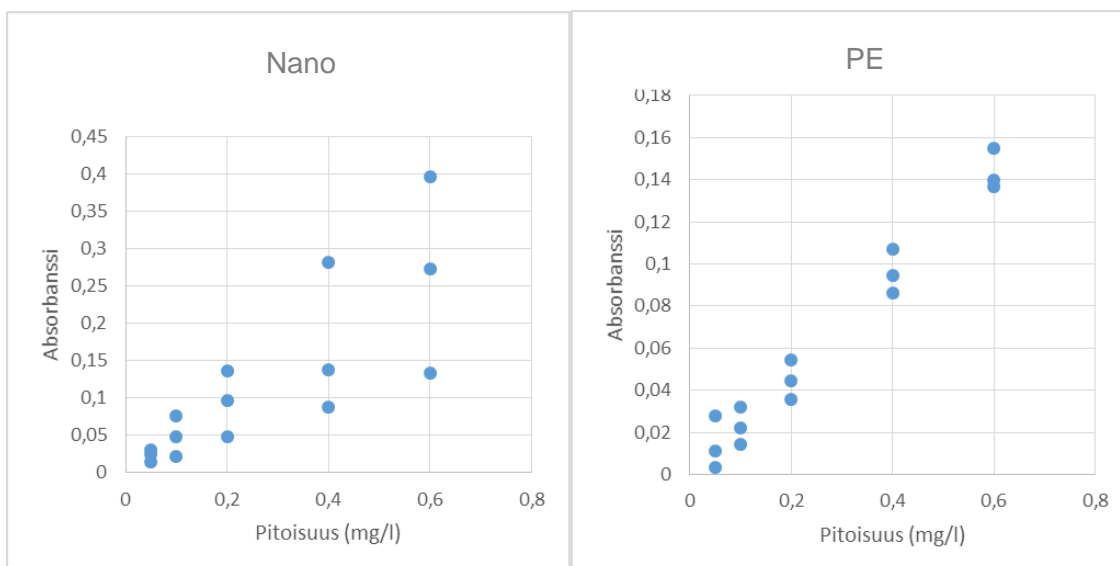
kaukana standardin mainitsemasta aallonpituudesta. PE laitteella mitattiin aallonpituutta 880 nm, Nano:lla aallonpituutta 800 nm. Kummatkin aallonpituudet olivat standardissa mainittuja.

Seurattiin SFS standardin 6878 ohjeita seuraavilla muutoksilla:

- Valmistettiin kalibrintiliuoksia kaupallisesta 1000 mg/l fosfaattiliuoksesta.
- Korvattiin standardin mainitsema KH_2PO_4 kemikaalilla $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$:lla, koska KH_2PO_4 :ta ei ollut käytettävissä. Oletettiin kummankin olevan ionimuodossa vesiliuoksessa ja laskettiin punnittava kemikaalin määrä PO_4^{3-} :n mukaan.
 - Käytettyjen liuosten pH alitti H_3PO_4 pK_a arvon, joten oletettiin kemikaalien olevan samassa muodossa analyyseissä
- Arsenaatin (AsO_4^{3-}) mahdollista häiriötä ei huomioitu.

Määrittämissä näytettä mitattiin 20 ml reaktioastiaan, johon lisättiin 0,5 ml askorbiinihappoliuosta ja sekoitettiin. Tähän lisättiin 1 ml molybdeenihappoliuosta, sekoitettiin ja odotettiin 10 min. Odottamisen jälkeen näytteet mitattiin. Jokaisesta näytteestä suoritettiin kolme rinnakkaismittausta ja yhteensä mittauksia tehtiin 92 kappaletta.

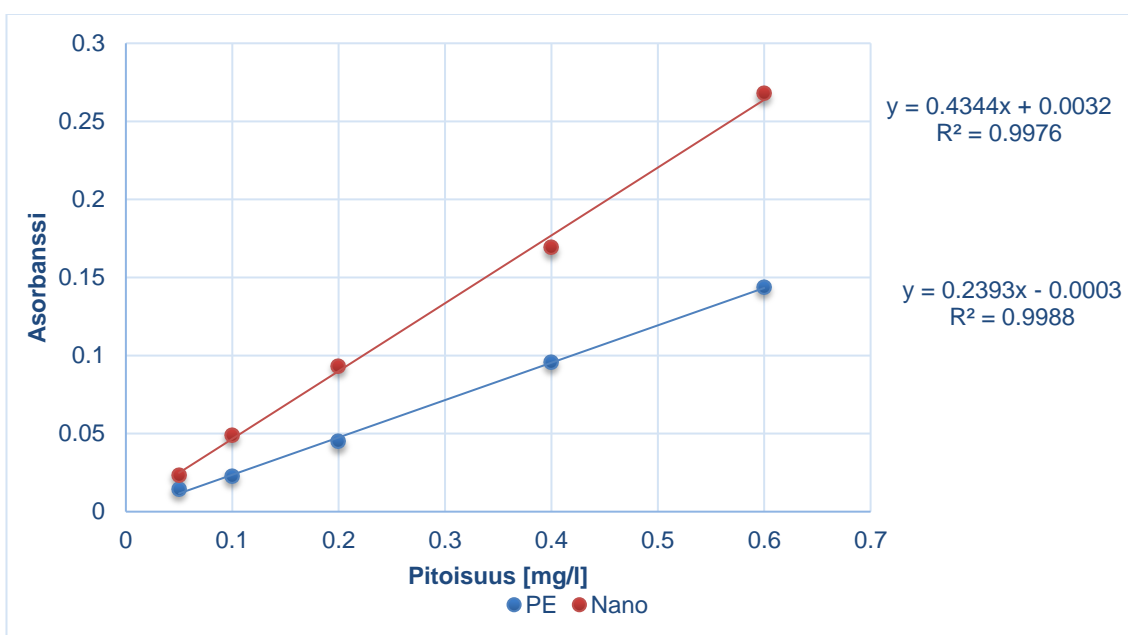
Määrittämissä muodostui ongelmiksi monia asioita, jotka vaikuttivat tuloksiin negatiivisesti: molybdeenihappo- sekä askorbiinihappoliuos loppuivat kesken analyysien, osassa analyysejä askorbiinihappoliuos oli värjäytynyt kellertäväksi, joka kasvatti mittausten kokonaispätevyyden todella suureksi, lisäksi Harakan laboratorion puutteelliset olosuhteet saattoivat vaikuttaa menetelmän tuloksiin; siellä ei ollut käytettävissä kalibroituja pipettejä, happopesua ei voitu suorittaa mittausten välissä ja liuokset valmistettiin kauan paikallaan olleesta ionivaihdetusta vedestä. Fosfaatin konsentraatio kasvoi suhteessa kuluneeseen aikaan (kuva 12), mikä saattoi johtua kantaliuoksen vanhenemisesta.



Kuva 12. Kalibraatiosuoran absorbanssiarvot nousivat jokaisena mittauspäivänä. Alin piste on ensimmäisen päivän absorbanssi, keskimääräinen piste on kaksi päivää myöhemmin mitattu absorbanssi ja ylin piste on kaksi viikkoa myöhemmin mitattu absorbanssi.

4.2.1 Kalibrintisuora

Fosfaatin määrittämiseen valmistettiin kalibrintisuora kaupallisesta standardista liuottamalla ionivaihdettuun veteen. Liuosten laskennalliset pitoisuudet olivat: 0,05 mg/l, 0,1 mg/l, 0,2 mg/l, 0,4 mg/l ja 0,6 mg/l.

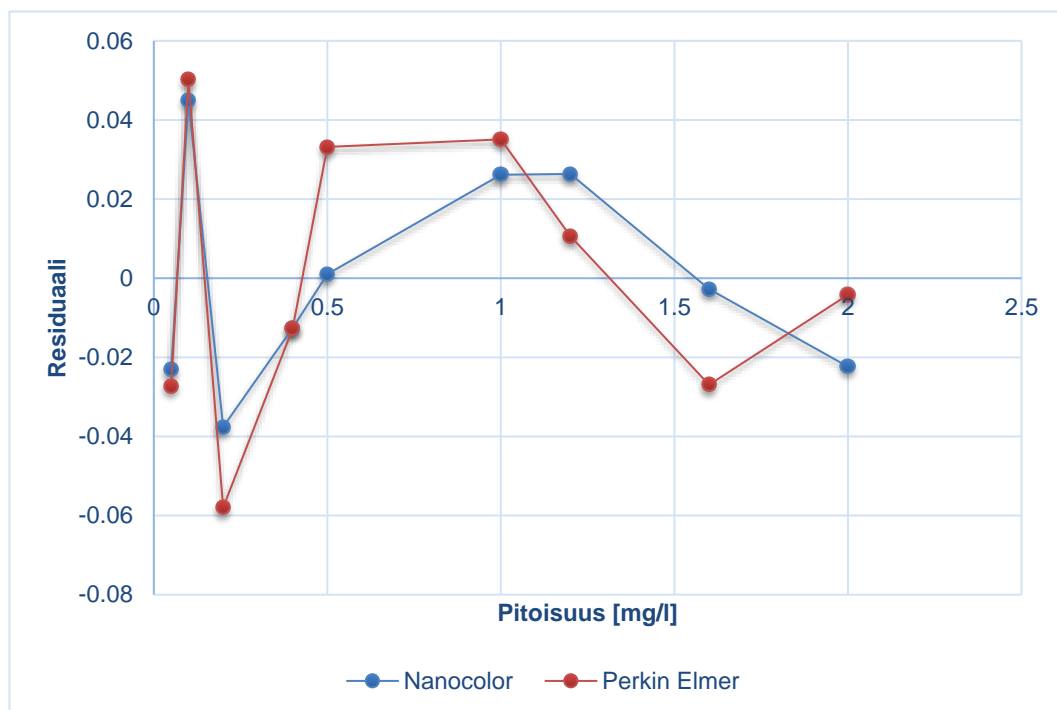


Kuva 13. Kalibrintisuorat fosfaattimäärittäyksille

Lineaarisuutta tutkittiin valmistamalla kantaliuoksesta 0,05 - 2 mg/l vahvuiset kalibrintiliuokset, joista mitattiin näiden absorbanssit. Saaduista tuloksista piirrettiin residuaalikuvaajat. Ylärajaksi valittiin 2 mg/l, koska tämä ylittää meriveden todennäköisen fosfaattipitoisuuden, 0,07 mg/l reilusti (taulukko 2).

Taulukko 12. Fosfaattimetodin lineaarisuuden määrittämisen tulokset sekä suorien R^2 arvot

Fosfaattipitoisuus [mg/l]	PE [A]	Nano [A]
0,05	- 0,0063	0,0074
0,1	0,0224	0,0317
0,2	0,0205	0,0353
0,4	0,0757	0,0814
0,5	0,1085	0,1048
0,8	ei tulosta	ei tulosta
1	0,2213	0,2125
1,2	0,2608	0,2536
1,6	0,3422	0,3298
2	0,4373	0,4078
Suorien R^2 arvo	0,9987	0,9992



Kuva 14. Fotometrien residuaalikuvaajat fosfaatille

Residuaalikuvaajien perusteella kalibrintisuora oli lineaarinen tutkitulle pitoisuusalueelle.

4.2.2 Määritysraja

Määritysrajaa tutkittiin pitoisuudella 0,025 mg/l, koska tämä pitoisuus oli puolet standardin mainitsemasta minimikalibrointialueesta, muttei kuitenkaan liian alhainen analyysitulosten saamiseen. Kantaliuoksesta laimennettiin 10 kpl 0,025 mg/l liuosta mittauksia varten. Määritysraja laskettiin alla olevalla kaavalla:

$$\text{Määritysraja} = 10 * s \quad (15)$$

s = keskihajonta

Taulukko 13. Fosfaattimääritysten määritysrajan pitoisuuksien keskihajonta, sekä määritysraja

	PE	Nano
Pitoisuuksien keskihajonta	0,0077 mg/l	0,0055 mg/l
Määritysraja	0,08 mg/l	0,06 mg/l

Määritysrajat kummallakin laitteilla ovat sopivia luonnollisen meriveden todennäköisen fosfaattipitoisuuden määrittämiseen: 0,07 mg/l. Standardin mainitsema määritysraja on 0,05 mg/l, jota lähellä kummallakin laitteella ollaan.

4.2.3 Näytteet

Näytteenä toimi noin yhden kuukauden pimeässä ja kylmässä seissyt merivesinäyte. Näytteitä mitattiin yhteensä 23 kappaletta ja tuloksista laskettiin keskiarvo.

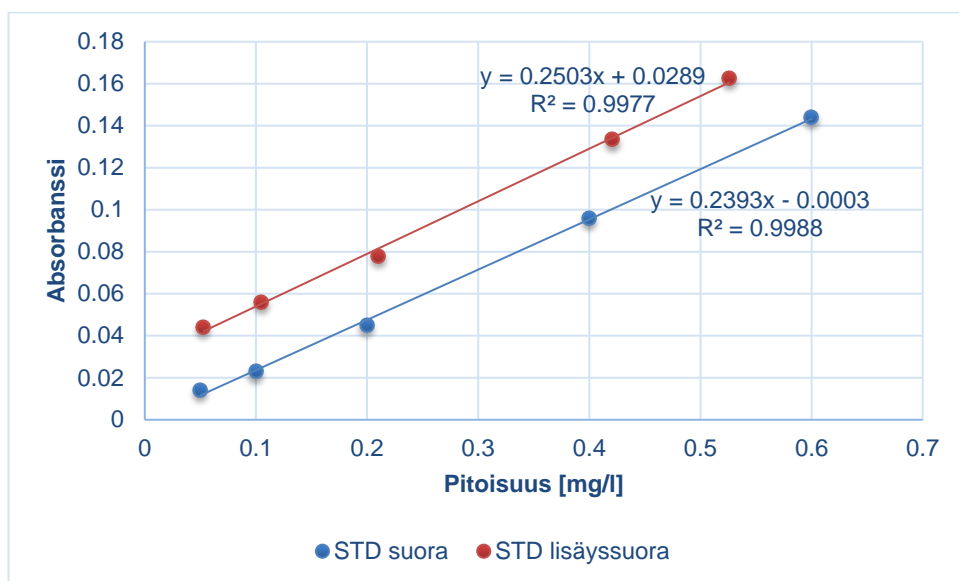
Taulukko 14. Fosfaattinäytteiden pitoisuuksien keskiarvot

	PE	Nano
Laskettu pitoisuus	0,01 mg/l	0,01 mg/l

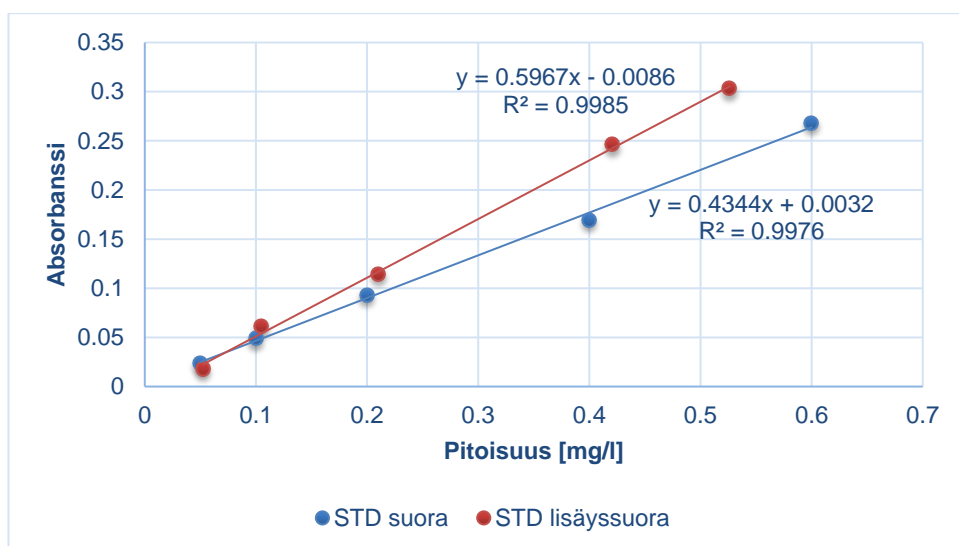
Tulokset olivat määritysrajan alapuolella, joten luottamusväliä ei laskettu. Oletettavasti matalat tulokset johtuivat vanhasta näytteestä, josta fosfaatti oli kadonnut.

4.2.4 Spesifisyys

Standardinlisäysuoraa verrattiin kalibrointisuoriin ja laskettiin näiden kulmakertoimien prosentuaaliset erot. Standardinlisäysuorat valmistettiin mittaamalla vakiomäärä vahvoja liuoksia ja laimentamalla ne merivedellä mittapullon merkkiin. Lopullinen suhde oli 5 % liuosta, 95 % merivettä. Saadut standardinlisäysuoran pitoisuudet olivat 0,05 mg/l, 0,1 mg/l, 0,2 mg/l, 0,4 mg/l ja 0,5 mg/l.



Kuva 15. PE-laitteen spesifisyys fosfaatille tutkittiin vertaamalla standardinlisäysuoraa kalibrointisuoraan, 880 nm



Kuva 16. Nano-laitteen spesifisyys fosfaatille tutkittiin vertaamalla standardinlisäysuoraa kalibrointisuoraan, 800 nm

Mittaukset tehtiin kahtena eri päivänä, kahdessa eri laboratoriossa, kahdella eri aallonpituudella. Nano:n mittaukseen käytettiin kontrolleille tehtyä kantaliuosta mittauksiin, sillä kalibrointiliuoksen kantaliuos loppui kesken. Suorien kulmakertoimien prosentuaaliset erot ovat esitetty taulukossa 15.

Taulukko 15. Kulmakertoimien prosentuaalinen erotukset

	PE	Nano
Ero %	10 %	45 %

Laitteiden kulmakertoimien erot ovat todella suuret. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että Nano:n standardinlisäyssi suoraan käytettiin kalibrointiliuoksien liuoksia. Yksin PE:n tuloksista voidaan päätellä, että matriisilla on mahdollisesti vaikutusta tuloksiin.

4.3 Kloridi

Työn olisi voinut toteuttaa täysin matemaattisesti laskemalla, koska Suomenlahden kloridipitoisuus on tunnettu. Työ kuitenkin tehtiin, sillä näyte otettiin Helsinki-altaan sisäpuolelta keväällä, eli siinä oli todennäköisesti paljon Vantaanjoesta valunutta makeaa vettä.

Seurattiin SFS-standardin 3002 ohjeita seuraavilla muutoksilla:

- Näytteen määrää säädettiin titrauksen kulutuksen mukaan

Titraus suoritettiin 50 ml byretillä, sekä dekantterilasilla, jossa oli 10 ml näytettä. Näytteeseen lisättiin 1 ml indikaattoria.

Näytteen kloridipitoisuus määritettiin titraamalla näyte hopeanitraattiliuoksella, jonka konsentraatio tarkastettiin SFS-standardin 3002 kohdan 4.4 mukaisesti. Konsentraatioksi saatiin 0,02837 mol/l. Titraus suoritettiin kolme kertaa eri näytetilavuuksilla; 100 ml näytettä, 50 ml näytettä ja 10 ml näytettä. 100 ml:n ja 50 ml:n näytteet hylättiin, koska niiden titraamiseen tarvittu hopeanitraattiliuoksen määrä oli niin korkea.

10 ml näytteen titraamiseen kului 28,3 ml hopeanitraattia. Kloridin pitoisuus laskettiin kaavan 16 mukaan:

$$\rho_{Cl} = (V_1 - V_2) * c * 35,45 * \frac{1000}{V_3} \quad (16)$$

ρ_{Cl} = Näytteen kloridipitoisuus [mg/l]

V_1 = Näytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

V_2 = Nollanäytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

c = Hopeanitraattiliuoksen konsentraatio [mol/l]

V_3 = Määritykseen käytetty näytetilavuus [ml]

35,42 = Kloridin moolimassa [g/mol]

1000 = Muuntokerroin [mg/g]

Lopulliseksi kloridipitoisuudeksi saatiin 2800 mg/l, mikä vastaa Suomenlahden, noin 3000 mg/l kloridipitoisuutta.

4.4 Kovuus

Seurattiin SFS standardin 3003 ohjeita seuraavilla muutoksilla:

- Valmistettiin indikaattorin kiinteä seos (0,5 g eriokromimusta T:tä ja 100 g NaCl)
- Muiden yhdisteiden häirintää ei huomioitu mittauksissa.

Titraus suoritettiin 25 ml byretillä, sekä dekanterilasilla, jossa oli 5 ml näytettä, 4 ml puskuriliuosta ja 45 ml ionivaihdettua vettä. Näytteeseen lisättiin noin 100 mg indikaattoriseosta.

Kovuus määritettiin titraamalla merivesinäyte 0,01 mol/l EDTA -lioksella. Ennen titrausta näytteeseen lisätään indikaattoriksi eriokromimusta T:tä. Titraus suoritettiin kolme kertaa: puhtaalla näytteellä, ½ laimennetulla näytteellä ja ionivaihdetulla vedellä 1/10 osaan laimennetulla, 50 ml näytteellä. 1/10 näyte oli ainoa, jonka kovuus pystyttiin määrittämään menetelmällä, sillä EDTA:n kulutus oli noin 1 ml EDTA:ta per 1 ml merivettä.

EDTA:n kulutus 1/10 laimennetulle näytteelle oli 5,1 ml. Kovuus laskettiin alla olevalla kaavalla:

$$x = \frac{1000 \cdot c \cdot V_1}{V} \quad (17)$$

x = Kalsiumin ja magnesiumin summa [mmol/l]

c = EDTA -liuoksen konsentraatio [mol/l]

V_1 = Titraukseen kulunut EDTA -liuoksen tilavuus [ml]

V = Näytteen tilavuus [ml]

1000 = Muuntokerroin [mmol/mol]

Lopulliseksi kovuudeksi saatiin 10 mmol/l. Meriveden kovuus on oletettavasti todella korkea, koska meressä on magnesiumin, sekä kalsiumin suoloja itsessään. Muiden metallien häirintää ei naamioitu, sillä Harakan laboratoriossa ei voida käyttää syanideja, mikä myös nostaa tulosta. Taulukossa 16 on listattuna talousveden kovuusasteikko.

Taulukko 16. Talousveden kovuusasteet [25. s. 288]

Luokitus	mmol/l
Erittäin pehmeä	0,0 - 0,3
Pehmeä	0,3 - 0,9
Keskikova	0,9 - 1,8
Kova	1,8 - 3,8
Erittäin kova	3,8 -

4.5 Kaikki mittaustulokset

Laitteiden vertailun keskeisimmät tulokset on listattu taulukoon 17.

Taulukko 17. Fosfaatti- ja nitriittimääritysten keskeisimmät tulokset

Nitriitti			
Testi	Laite	Tulokset	Lisätietoja
Lineaarisuus	PE	Suoran yhtälö: $0,001x+0,033$, $R = 0,99931$	Mittausalue 10 µg/l - 2000 µg/l
	Lovi	Suoran yhtälö: $0,001x+0,096$, $R = 0,99385$	
	Nano	Suoran yhtälö: $0,001x+0,016$, $R = 0,99986$	
Määrittysraja	PE	10 µg/l	Mitattu pitoisuus 5 µg/l
	Lovi	30 µg/l	
	Nano	25 µg/l	
Näytteet	PE	21 µg/l	Merivesi
	Lovi	9 µg/l (alle määrittysrajan)	
	Nano	16 µg/l (alle määrittysrajan)	
Takaisinsaantokokeet	PE	20 µg/l : 65,5 %, 160 µg/l : 95,5 %	
	Lovi	20 µg/l : 102,9 %, 160 µg/l : 101,8 %	
	Nano	20 µg/l : 80,3 %, 160 µg/l : 93,5 %	
Spesifisyys	PE	Kulmakertoimien ero: 6 %	Standardinlisäys- vs standardisuora
	Lovi	Kulmakertoimien ero: 5 %	
	Nano	Kulmakertoimien ero: 6 %	
Kontrollinäytteet järjestys: 20, 24, 240, 400	PE	Saanto%: 87,5 %, 110,5 %, 100,1 %, 96,8 %	20 µg/l, 24 µg/l, 240 µg/l, 400 µg/l
	Lovi	Saanto%: 54,8 %, 69,8 %, 97,9 %, 95,8 %	
	Nano	Saanto% 44,0 %, 96,8 %, 95,1 %, 91,6 %	
Kokonaismittausepävarmuus	PE	6 %	102 näytettä
	Lovi	8 %	
	Nano	12 %	

Fosfaatti			
Testi	Laite	Tulokset	Lisätietoja
Lineaarisuus	PE	Suoran yhtälö: $0,225x-0,011$, $R = 0,99874$	Mittausalue 0,05 mg/l - 2 mg/l
	Nano	Suoran yhtälö: $0,205x+0,002$, $R = 0,99924$	
Määrittysraja	PE	0,08 mg/l	Mitattu pitoisuus 0,025 mg/l
	Nano	0,06 mg/l	
Näytteet	PE	0,008 mg/l (alle määrittysrajan)	Vanha merivesi
	Nano	0,011 mg/l (alle määrittysrajan)	
Spesifisyys	PE	Kulmakertoimien ero: 10 %	Standardinlisäys- vs standardisuora
	Nano	Kulmakertoimien ero: 45 %	

Kloridin ja kovuuden mitatut pitoisuudet ovat alla olevassa taulukossa. Taulukkoon on myös kirjoitettu käytetty näytteenkäsittely.

Taulukko 18. Kloridi- ja kovuusmittausten tulokset merivedestä

	Tulos	Näyte
Kloridi	2800 mg/l	10 ml merivesi näytettä
Kovuus	10 mmol/l	5 ml merivesinäytettä, johon lisätty 50 ml merkkiin asti ionivaihdettua vettä

5 Johtopäätökset

Kaikki tehdyt analyysit on mahdollista toteuttaa Harakan luontokeskuksen laboratoriossa. Fosfaatin osalta saadut tulokset olivat epätarkkoja, mutta itse menetelmällä oppilaiden on mahdollista toteuttaa tutkimus myös Harakan Ympäristökeskuksen laboratoriossa. Työn tarkoitus siis täyttyi: uusia menetelmiä saatiin luotua.

Tämän opinnäytetyön luomilla työohjeilla (liitteet 2 - 5) ryhmällä kuluu aikaa noin 2 tuntia ohjeistukseen ja näytteenottoon, 4 tuntia mittauksiin ja noin 2 tuntia tulosten laskemiseen, kun reagenssit ja laskuissa tarvittavat kuvaajat ovat valmiina. Tulosten laskemiseen varattua aikaa voi käyttää myös töiden teorian syventämiseen ja siitä keskusteluun, sillä opetuksen tärkeä vaihe on juuri opittujen asioiden reflektointi kanssaopiskelijoiden, sekä opettajien kanssa.

Tulevaisuudessa Harakan laboratorion päivittämistä voi jatkaa luomalla lisää menetelmiä ympäristökasvatukseen SFS-standardien pohjalta, tai rakentamalla niitä itse: esimerkiksi viime aikoina uutisissa ollut Littoistenjärven kirkastaminen kemikaaleilla voidaan demonstroida Harakan laboratoriossa käyttämällä kloridityön standardin alumiinihydroksidi suspensio -reagenssia sitomaan humusta vedestä ja näin kirkastamaan humuspitoinen vesinäyte.

Jos laboratoriota päivitetään tulevaisuudessa uusilla metodeilla, niin seuraavat menetelmät voisivat olla happi-titraus, sekä maaperän uuttaminen vesifaasiin ja sen tutkimiseen liittyviä menetelmiä. Näin saataisiin luotua monipuolinen joukko vesi- ja maa-analyysejä opiskelijoiden toteutettavaksi paikan päällä. Lisäksi ilman tyypidioksidipitoisuuden määrittäminen passiivikeräimellä -metodin toimivuus Nanocolor 500 D fotometrillä voitaisiin testata.

Lähteet

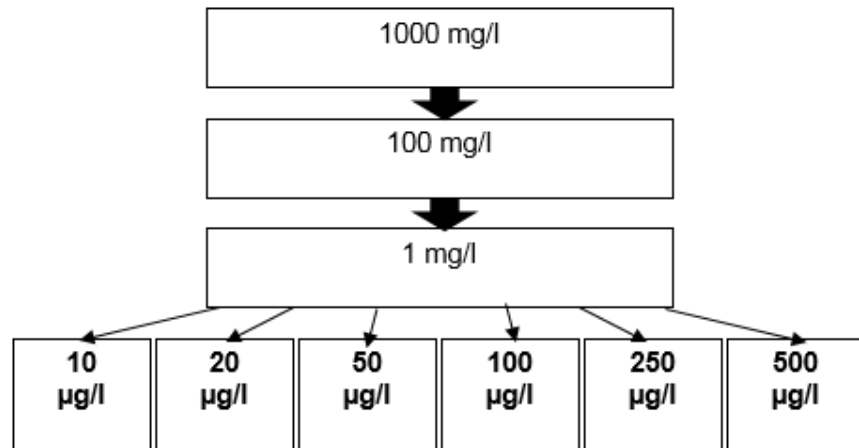
- 1 Ympäristöministeriön verkkosivu, http://www.ym.fi/fi-FI/Ymparisto/Lainsaadanto_ja_ohjeet, luettu 11.10.2017
- 2 Finlexin verkkosivu, <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2014/20140527>, luettu 10.10.2017
- 3 Maailmankoulun verkkosivu, <http://www.maailmankoulu.fi/node/66>, luettu 17.10.2017
- 4 Ammattinetin verkkosivu, http://www.ammattinetti.fi/ammattit/detail/212_ammatti, luettu 17.10.2017
- 5 Opetushallituksen ylläpitämä edu:n verkkosivu, http://www.edu.fi/perusopetus/elamankatsomustieto/ops2016_tukimateriaalit/tutki_va_oppiminen_ja_ilmiopohjaisuus, luettu 19.10.2017
- 6 Global Metrics for the Environment, European Performance Index 2016 ympäristöraportti
- 7 European Environment Agency:n verkkosivu, <https://www.eea.europa.eu/>, luettu 11.10.2017
- 8 Euroopan unionin verkkosivu, https://europa.eu/european-union/about-eu/agencies/eea_en, luettu 11.10.2017
- 9 Suomen ympäristökeskuksen verkkosivu, http://www.syke.fi/fi-FI/SYKE_Info, luettu 12.10.2017
- 10 Suomen ympäristökeskuksen verkkosivu, <http://www.syke.fi/menetelmastandardisointi>, luettu 19.10.2017
- 11 Manahan, Stanley E. "ENVIRONMENTAL SCIENCE, TECHNOLOGY, AND CHEMISTRY". Environmental Chemistry. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000
- 12 Analysis of Seawater, A Guide for the Analytical and Environmental Chemist, T.R.Crompton, Springer
- 13 Environmental Chemistry, Colin Braid, Second edition, W. H. Freeman & Company

- 14 Thermophysical properties of seawater: A review and new correlations that include pressure dependence Kishor G. Nayar a , Mostafa H. Sharqawy b , Leonardo D. Banchik a , John H. Lienhard V
- 15 Enviroment instruments and systems:n verkkosivu, <http://osil.com/AboutOSIL/Resources/SeawaterTechnicalPapers/tabid/104/articleType/ArticleView/articleId/220/Composition-of-Ocean-Standard-Seawater.aspx>, luettu 11.10.2017
- 16 The Gulf of Finland assessment, Mika Raateoja ja Outi Setälä, Suomen ympäristökeskus, 2014
- 17 Itämeri Ympäristö ja ekologia, Eeva Furman, Mia Pihlajamäki, Pentti Välipakka & Kai Myrberg, 2013, SYKE
- 18 Analytical Measurements in Aquatic Environments, Jacek Namiesnik, Piotr Szefer, CRC Press
- 19 Quanitative chemical analysis, Daniel C Harris, Ninth edition, W. H. Freeman & Company
- 20 SFS standardi 3029, Veden nitriittitypen määrittäminen
- 21 Tri. Martin Arford:n verkkosivu, <https://sites.google.com/a/bangorschools.org/dr-arford---soiled-it/projects/isaiah-s-project/methods>, luettu 26.10.2017
- 22 SFS standardi 6878, Water quality - Determination of phosphorus - Ammonium molybdate spectrometric method
- 23 SFS standardi 3002, Veden kloridipitoisuuden määrittäminen. Titraus Mohrin menetelmällä
- 24 SFS standardi 3003, Veden kalsium ja magnesium summan määrittäminen. Titrimetrinen menetelmä
- 25 Yleinen ja Epärogaaninen kemia, Risto Laitinen ja Jukka Toivonen, Otatieto 1993

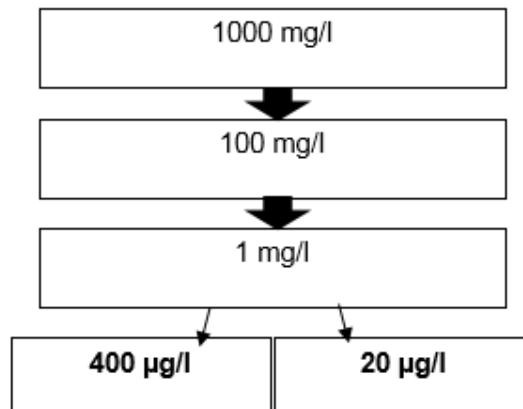
Laimennoskaaviot

Nitriitti

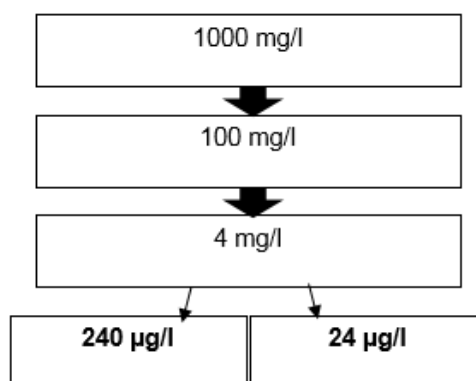
Taulukko 1. Standardisuora



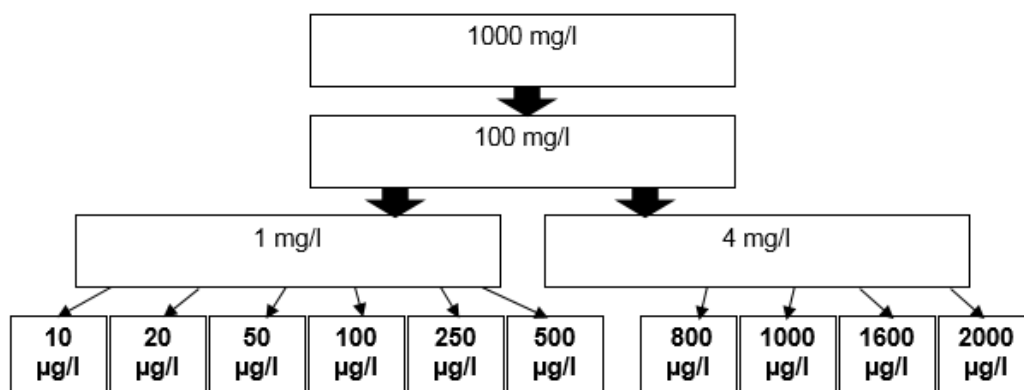
Taulukko 2. Kontrollien laimennoskaavio, päivä 1



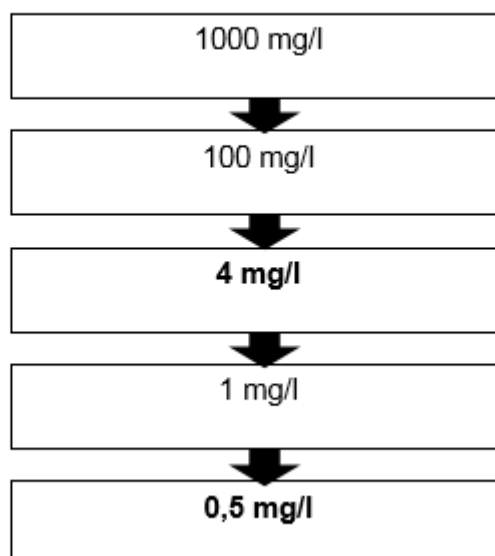
Taulukko 3. Kontrollien laimennoskaavio, päivä 2



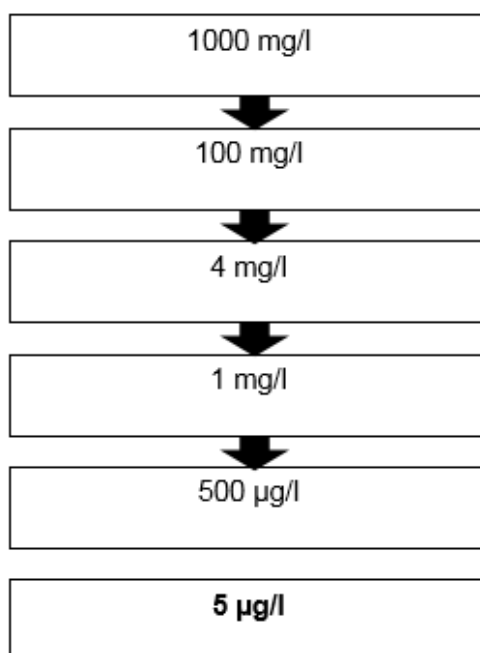
Taulukko 4. Laimennoskaaviot



Taulukko 5. Takaisinsaantokoe

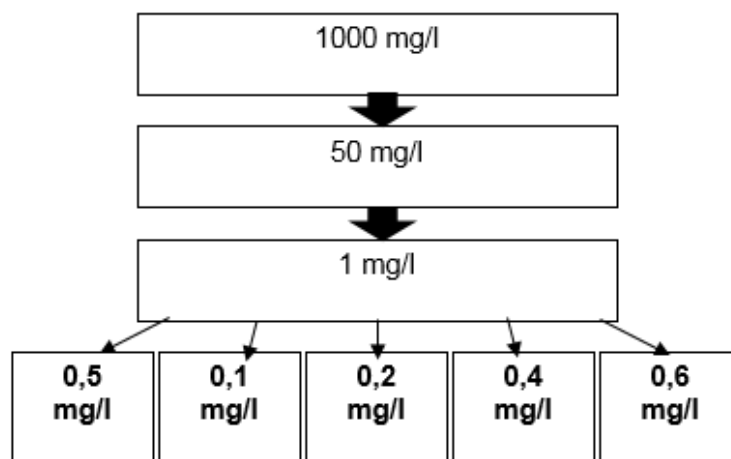


Taulukko 6. Määrittäysrajan laimennoskaavio

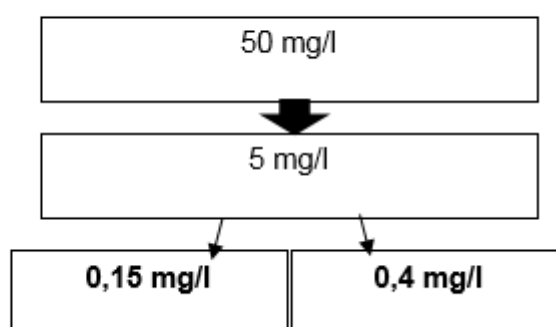


Fosfaatti

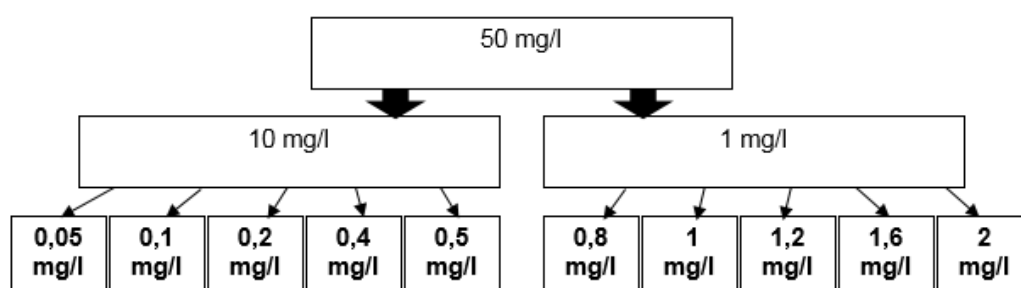
Taulukko 7. Laimennoskaavio kalibrointisuoralle



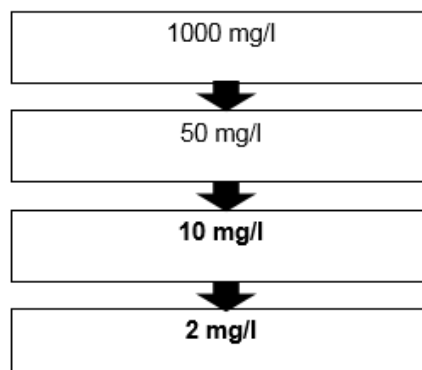
Taulukko 8. Kontrollien laimennoskaavio



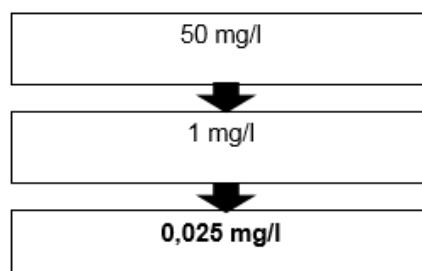
Taulukko 9. Lineaarisuustaulukko laimennoskaaviot



Taulukko 10. Takaisinsaantokokeiden kantaliuosten laimentaminen



Taulukko 11. Määrittysrajan laimennoskaavio

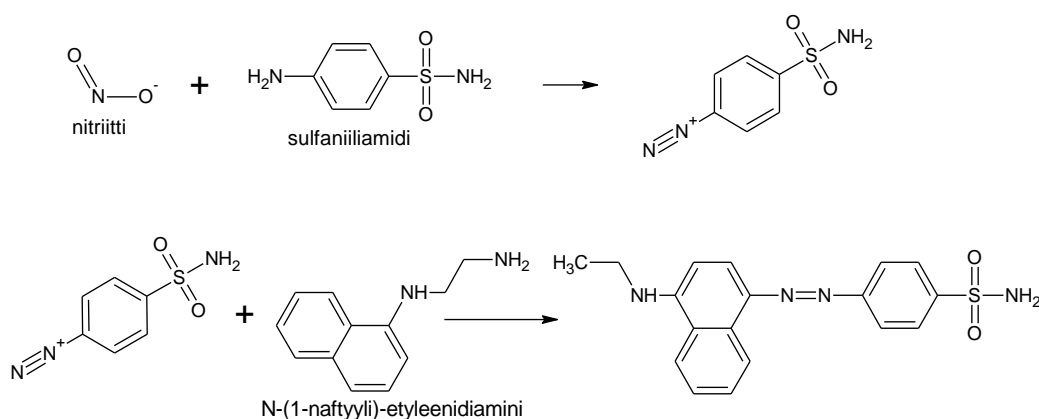


Nitriitin määrittäminen merivedestä, Spektrometrinen metodi

Teoria

Nitriitti on typpipohjainen ravinneaine. Sitä käytetään maataloudessa peltojen lannoittamisessa ja osa meressä löytyvästä nitriitistä onkin peräisin peltojen yllilannoituksesta. Korkeimmillaan nitriittipitoisuus meressä on keväällä, kun lumi sulaa ja kuljettaa jokia pitkin ravinteita mereen. Nitriittiä käytetään myös lihateollisuudessa säilöntäaineena. Lisäksi nitriitti antaa lihalle sen punaisen värin.

Työn menetelmä perustuu nitriitin reagoimiseen sulfaniilamidin kanssa happamissa olosuhteissa muodostaen diatsoyhdisteen, joka reagoi N-(1-naftyyli)-etyleenidiamiini dihydrokloridin kanssa muodostaen atsoväriaineen. Tämän väriaineen syvyyttä mitataan fotometrin aallonpituudella 540 nm.



Kuva 1. Nitriittianalyysin reaktiot

Labert-Beerin yhtälöstä saadaan laskettua näytteen pitoisuus, kun tiedetään kalibrintisuoran yhtälö (kuva 2), sekä absorbanssi (A)

Laboriotyöskentely

Laboratoriossa työskennellessä on noudatettava ohjaajan ohjeita. Laboratoriossa tulee aina käyttää suojavarusteita:

- Laboriotakki
- Kumihanskat
- Suojalasit

Laboratoriossa ei myöskään saa syödä tai juoda mitään, sillä pinnoilla voi olla myrkyllisiä aineita, jotka eivät saa joutua elimistöön. Laboratoriosta poistuttaessa kädet tulee pestä saippualla.

Laboratoriossa kaikki jätteet laitetaan niille erikseen osoitettuun paikkaan, eikä esimerkiksi kaadeta viemäristä alas.

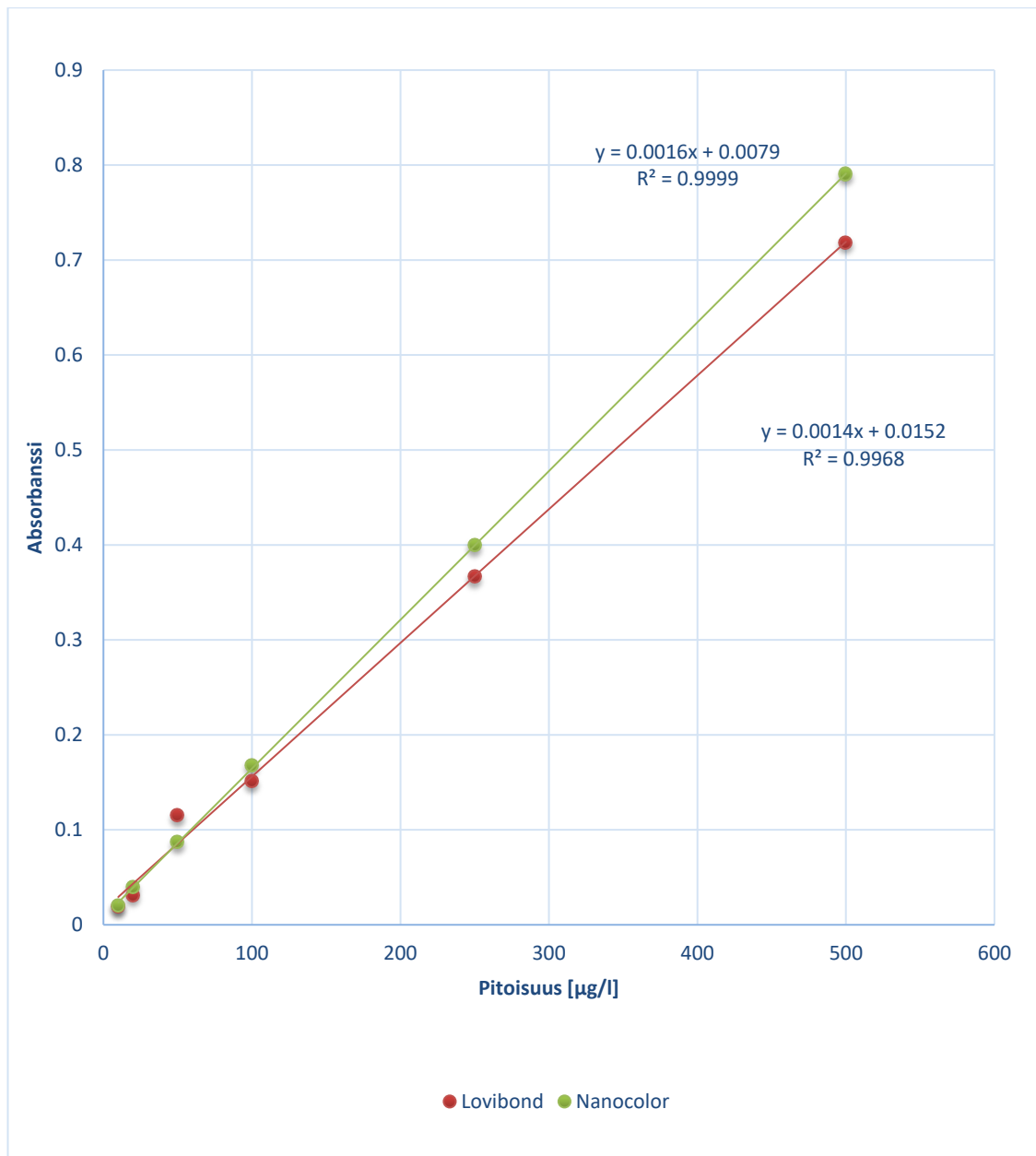
Laskut

Nanocolor

1. $A = 2 - \log(\%T)$
2. $c [\mu\text{g/l}] = (A - \text{Leikkauspiste}) / \text{Kulmakerroin}$

Lovibond:

1. $A = mA/1000$
2. $c [\mu\text{g/l}] = (A - \text{Leikkauspiste}) / \text{Kulmakerroin}$



Kuva 2. Kalibroitisuorat fotometreille

Tarvikkeet

- Näytepullo
- 25 ml täyspipetti
- Dekanterilasi, noin 50 ml (reaktioastia)
- Automaattipipetti, 0,5 ml x2
- Fotometri (Nanocolor tai Lovibond)
- Fotometrin kyvetti
 - Lovibondilla lasinen
 - Nanocolorilla koeputki



Kuva 3. Nanocolor 500 D, sekä Lovibond PC 22 fotometrit

Menetelmä

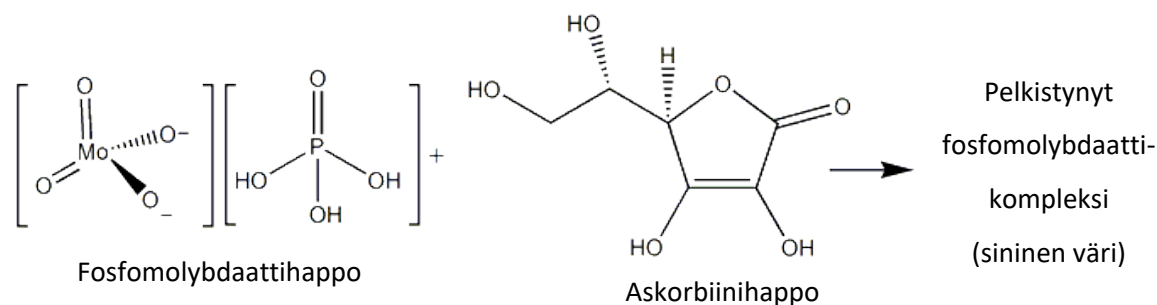
1. Kerätään merivesinäyte
2. Siirretään 25 ml näytettä reaktioastiaan
3. Lisätään 0,5 ml sulfaniiliamidiliuosta automaattipipetillä ja sekoitetaan varovasti pari minuuttia **(Huom! Hapan liuos!)**
4. Lisätään 0,5 ml N-(1-naftyyli)-etyleenidiamiini dihydrokloridiliuosta ja sekoitetaan varovasti noin 10 minuuttia **(Huom! Myrkyllinen liuos, ei saa joutua silmiin/iholle/vaatteille)**
5. Annetaan reaktion tapahtua vielä itsekseen noin 5 min
6. Siirretään fotometrin kyvetiin näytettä *(kyvetin puoliväliin asti)*
7. Mitataan näytteen absorbanssi
 - %T Nanocolorilla, **M** nappi suorittaa mittauksen
 - mA Lovibondilla, **Test** nappi suorittaa mittauksen
8. Pestään työssä käytetyt astiat
9. Pitoisuus saadaan laskemalla kalibroitisuoran avulla.

Fosfaatin määrittäminen merivedestä, Spektrometrinen metodi

Teoria

Fosfaatti on tyypillinen ravinneaine maataloudessa. Sitä käytetään myös muussa teollisuudessa, kuten esimerkiksi pesuaineissa tai hammastahnoissa. Lisäksi fosfaatin hapan muoto, fosforihappo on osa DNA:n perusrakennetta. Suuri osa merivedessä olevasta fosfaatista on peräisin peltojen ylitannoituksesta; vain noin 20 % pelloille laitettavasta fosfaatista pysyy halutulla alueella.

Työn menetelmä perustuu fosfaatti ionien reagoimiseen happamissa olosuhteissa molybdaatti ja antimoni ionien kanssa muodostaen fosfori-molybdaatti kompleksin. Kompleksi pelkistetään askorbiinihapolla, jolloin liuos muodostaa värillisen molybdeenin sinisen -kompleksin. Fosfaattien pitoisuus voidaan määrittää mittaamalla värin syvyyttä fotometrillä aallonpituudella 800 nm.



Kuva 1. Fosfaattianalyysin reaktiot

Labert-Beerin yhtälöstä saadaan laskettua näytteen pitoisuus, kun tiedetään kalibroitisuoran yhtälö (kuva 2), sekä absorbanssi (A)

Laboriotyöskentely

Laboratoriossa työskennellessä on noudatettava ohjaajan ohjeita. Laboratoriossa tulee aina käyttää suojavarusteita:

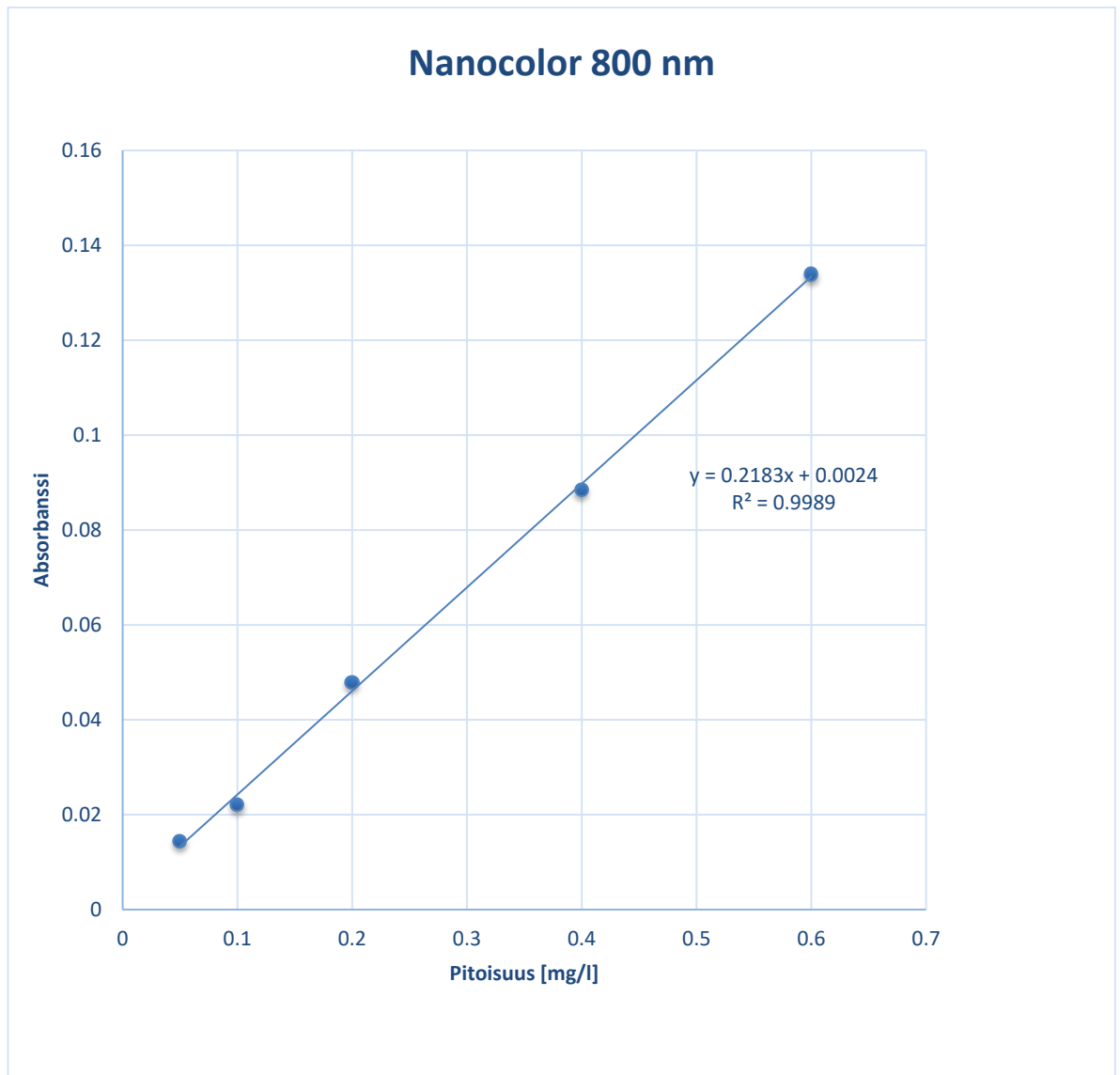
- Laboriotakki
- Kumihanskat
- Suojalasit

Laboratoriossa ei myöskään saa syödä tai juoda mitään, sillä pinnoilla voi olla myrkyllisiä aineita, jotka eivät saa joutua elimistöön. Laboratoriosta poistuttaessa kädet tulee pestä saippualla.

Laboratoriossa kaikki jätteet laitetaan niille erikseen osoitettuun paikkaan, eikä esimerkiksi kaadeta viemäristä alas.

Laskut

1. $A = 2 - \log(\%T)$
2. $c [\mu\text{g/l}] = (A - \text{Leikkauspiste}) / \text{Kulmakerroin}$



Kuva 2. Kalibrointisuora

Tarvikkeet

- Näytepullo
- Dekantterilasi n. 50 ml (reaktioastia)
- Automaattipipetti x2, sekä kärjet näihin (0,5 ml - 1,0 ml)
- Fotometrin kyvetti (lasiputki)
- Fotometri (Nanocolor)



Kuva 3. Nanocolor 500 D fotometri

Menetelmä

1. Kerätään merivesinäyte
2. Siirretään 20 ml merivettä reaktioastiaan
3. Lisätään 0,5 ml askorbiinihappoliuosta automaattipipetillä ja sekoitetaan varovasti noin kaksi minuuttia
4. Lisätään 1 ml molybdeenihappoliuosta automaattipipetillä ja sekoitetaan varovasti noin 7 minuuttia **(Huom! Vahvasti hapan liuos!)**
5. Annetaan reaktion tapahtua vielä 3 minuuttia itsekseen
6. Siirretään fotometrin kyvetiin näytettä *(yli puolenvälin)*
7. Mitataan näytteen %T Nanocolor fotometrillä aallonpituudella 800 nm **(M nappi suorittaa mittauksen)**
8. Pestään työssä käytetyt astiat
9. Pitoisuus saadaan laskemalla kalibroitisuoran avulla.

Kloridin määrittäminen merivedestä, Titrimetrinen metodi

Teoria

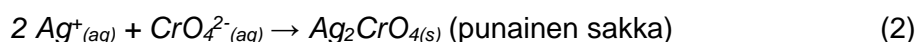
Kloridipitoisuutta voidaan yleisesti pitää suolapitoisuuden mittana; ruokasuolan kemiallinen kaava on NaCl. Suurin osa merien suolasta on juuri tätä suolaa: valtamerien merivedessä on noin 35 g/l (3,5 %) eri suoloja: NaCl (29,7 g/l), CaCO₃ (0,12 g/l), CaCO₃ · H₂O (1,75 g/l), MgSO₄ (2,48 g/l), MgCl₂ (3,32 g/l), NaBr (0,55 g/l) sekä KCl (0,53 g/l).

Veden kloridipitoisuus määritetään titraamalla vesinäyte hopeanitraattiliuoksella, käyttäen kaliumkromaatti-indikaattoria. Titrauksen loppukohdan osoittaa vaikealiukoinen, punainen hopeakromaatin saostuminen näyteastiaan; liuoksen vaihtaessa väriä titraus lopetetaan. Yhtälöissä 1 ja 2 on esitetty työssä tapahtuva reaktio.

Titrauksen aikana kloridi-ionit saostuvat hopeakloridisakaksi:



Kun kloridi on kulutettu loppuun, sitoutuu hopea indikaattoriin muodostaen punaisen sakan:



Pitoisuus lasketaan kaavalla:

$$\rho_{Cl} = (V_1 - V_2) * c * 35,45 * \frac{1000}{V_3} \quad (3)$$

ρ_{Cl} = Näytteen kloridipitoisuus [mg/l]

V_1 = Näytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

* V_2 = Nollanäytteen titraukseen kulunut hopeanitraattiliuoksen tilavuus [ml]

c = Hopeanitraattiliuoksen konsentraatio [mg/l]

V_3 = Määrittämiseen käytetty näytetilavuus [ml]

35,42 = Kloridin moolimassa [g/mol]

1000 = Muuntokerroin [mg/g]

* V_2 oletetaan nolaksi, ellei toisin mainita.

Laboratoriotyöskentely

Laboratoriossa työskennellessä on noudatettava ohjaajan ohjeita. Laboratoriossa tulee aina käyttää suojavarusteita:

- Laboratoriotakki
- Kumihanskat
- Suojalasit

Laboratoriossa ei myöskään saa syödä tai juoda mitään, sillä pinnoilla voi olla myrkyllisiä aineita, jotka eivät saa joutua elimistöön. Laboratoriosta poistuttaessa kädet tulee pestä saippualla.

Laboratoriossa kaikki jätteet laitetaan niille erikseen osoitettuun paikkaan, eikä esimerkiksi kaadeta viemäristä alas.

Tarvikkeet

- Näytepullo
- 50 ml byretti
- Dekantterilasi, noin 50 ml (näyteastia)
- 10 ml täyspipetti
- Automaattipipetti, 1 ml

Menetelmä

Titraus suoritetaan 50 ml byretillä, sekä dekantterilasissa, jossa on 10 ml merivesinäytettä, sekä 1 ml indikaattoria.

1. Otetaan merivesinäyte
2. Täytetään byretti varovasti merkkiin hopeanitraattiliuoksella **(Huom! Myrkyllinen liuos, ei saa joutua silmiin/iholle/vaatteille)**
3. Pipetoidaan täyspipetillä 10 ml merivettä näyteastiaan
4. Pipetoidaan 1 ml indikaattoria näyteastiaan **(Huom! Myrkyllinen liuos, ei saa joutua silmiin/iholle/vaatteille)**
5. Titrataan näyte hitaasti hopeanitraattiliuoksella, kunnes näytteessä alkaa näkymään punaista sakkaa
6. Pestään käytetyt astiat
7. Lasketaan pitoisuus Kaavan 3 laskulla

Kovuuden määrittäminen merivedestä, Titrimetrinen metodi

Teoria

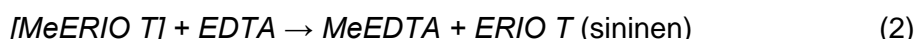
Veden kovuus, eli magnesiumin ja kalsiumin summa määritetään titraamalla näyte etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA) -liuoksella pH 10:ssä eriokromimusta T:n (ERIO T) toimii indikaattorina määrittämisessä, jonka vuoksi pH:n on oltava välillä 9,4 - 10,4, koska ERIO T:n väri on punainen matalassa pH:ssä ja oranssi korkeassa pH:ssä. pH 10:ssä ERIO T:n väri on sininen.

Titrauksen alussa ERIO T muodostaa viininpunaisen kompleksin magnesiumin ja kalsiumin kanssa. Koska ERIO T sitoo metalleja heikommin kuin EDTA, sitoo EDTA metallit pois titrauksen aikana ERIO T:stä, kunnes indikaattorin oma väri vapautuu ja liuos muuttuu siniseksi. Yhtälöissä 1 ja 2 on esitetty työssä tapahtuvat reaktiot.

Kun indikaattori lisätään, sitoutuu se metalleihin muodostaen viininpunaisen kompleksin:



Titrauksen lopussa kaikki metallit ovat sitoutuneina EDTA:n ja indikaattorin oma väri vapautuu:



Me = magnesium + kalsium

Pitoisuus lasketaan kaavalla:

$$x = \frac{1000 \cdot c \cdot V_1}{V} \quad (3)$$

x = Kalsiumin ja magnesiumin summa [mmol/l]

c = EDTA -liuoksen konsentraatio [mol/l]

V_1 = Titraukseen kulunut EDTA -liuoksen tilavuus [ml]

V = Näytteen tilavuus [ml]

1000 = Muuntokerroin [mmol/mol]

Koska EDTA muodostaa komplekseja useiden metallien kanssa, on normaalisti kovuutta määritettäessä naamioitava muita näytteessä olevia metalleja syanidilla. Syanidi sitoo itseensä seuraavia metalli-ioneja Cd^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Cu^+ , Ag^+ , Ni^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Fe^{2+} ja Fe^{3+} . Tätä ei kuitenkaan tehdä, sillä syanidi on erittäin myrkyllinen yhdiste ihmiselle.

Laboratoriotyöskentely

Laboratoriossa työskennellessä on noudatettava ohjaajan ohjeita. Laboratoriossa tulee aina käyttää suojavarusteita:

- Laboratoriotakki
- Kumihanskat
- Suojalasit

Laboratoriossa ei myöskään saa syödä tai juoda mitään, sillä pinnoilla voi olla myrkyllisiä aineita, jotka eivät saa joutua elimistöön. Laboratoriosta poistuttaessa kädet tulee pestä saippualla.

Laboratoriossa kaikki jätteet laitetaan niille erikseen osoitettuun paikkaan, eikä esimerkiksi kaadeta viemäristä alas.

Tarvikkeet

- Näytepullo
- 25 ml byretti
- Dekanterilasi, noin 100 ml (näyteastia)
- Automaattipipetti, 5 ml ja 4 ml
- 45 ml täyspipetti
- Analyysivaaka (indikaattorille)

Menetelmä

Titraus suoritettiin 25 ml byretillä, sekä dekanterilasilla, jossa oli 5 ml näytettä ja 45 ml ionivaihdettua vettä. Näytteeseen lisättiin noin 100 mg indikaattoriseosta.

1. Otetaan merivesinäyte
2. Täytetään byretti varovasti merkkiin 0,01 mol/l EDTA -liuoksella
3. Pipetoidaan 5 ml merivesinäytettä automaattipipetillä näyteastiaan
4. Pipetoidaan 45 ml ionivaihdettua vettä täyspipetillä näyteastiaan
5. Lisätään 4 ml puskuriliuosta näyteastiaan
6. Lisätään indikaattoriseos näyteastiaan
7. Titrataan näyte hitaasti EDTA -liuoksella, kunnes näytteen väri muuttuu punaisesta siniseksi ja otetaan EDTA kulutus talteen
8. Pestään käytetyt astiat
9. Lasketaan pitoisuus kaavan 3 laskulla